

## AN APPARATUS AND METHOD FOR ANALYSES OF BIOLOGICAL SPECIMENS

Publication number: JP63501597T

Publication date: 1988-06-16

Inventor:

Applicant:

Classification:

- international: G01N1/00; G01N1/28; G01N15/14; G01N21/78; G01N33/48; G01N33/49; G01N33/50; G01N33/577; G01N33/96; G01N35/00; G01N35/02; G02B21/34; G06K9/00; G06T1/00; G01N15/10; G01N33/48; G01N1/00; G01N1/28; G01N16/14; G01N21/77; G01N33/49; G01N33/50; G01N33/577; G01N33/96; G01N35/00; G01N35/02; G02B21/34; G06K9/00; G06T1/00; G01N15/10; (IPC1-7): G01N21/78; G01N33/48; G01N35/00; G06F15/62

- european: G01N15/14H; G06K9/00B

Application number: JP19860506397T 19861104

Priority number(s): US19850794937 19851104; WO1986US02409 19861104

Also published as:

WO8702803 (A)  
WO8702802 (A)  
EP0248840 (A1)  
EP0245466 (A1)  
US4741043 (A1)

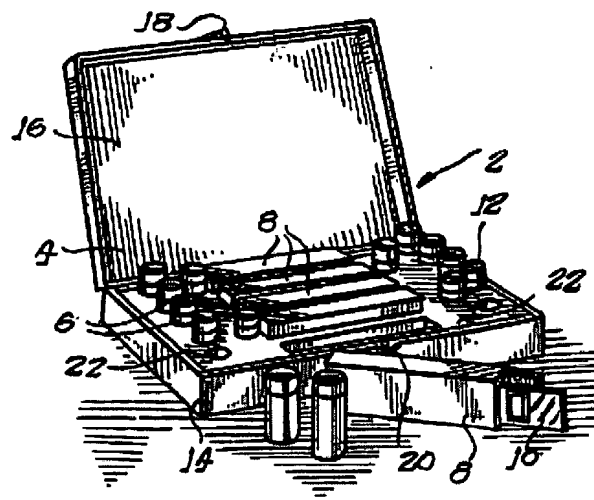
more &gt;&gt;

Report a data error h

Abstract not available for JP63501597T

Abstract of corresponding document: WO8702803

A kit (2) for the quantitation of cell nuclei wherein the kit includes a stain (6), a rinse sulfonating agent (12) and microscopic slides (10). Each slide has reference cell objects and a specimen cell area for receipt of specimen cells which are stained simultaneously with the reference cell objects.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

## ⑫ 公表特許公報(A)

昭63-501597

⑬ 公表 昭和63年(1988)6月16日

⑭ Int. Cl. <sup>4</sup>	識別記号	庁内整理番号	審査請求 未請求	子審査請求 未請求	部門(区分)	6(1)
G 01 N 33/48 21/78 35/00 G 06 F 15/62	3 9 5	P-8305-2G B-8305-2G A-8508-2G 8419-5B				
						(全 28 頁)

⑯ 発明の名称 生体標本用の分析方法および装置

⑰ 特 願 昭61-506397

⑱ 出 願 昭61(1986)11月4日

⑲ 翻訳文提出日 昭62(1987)7月3日

⑳ 国際出願 PCT/US86/02409

㉑ 国際公開番号 WO87/02802

㉒ 国際公開日 昭62(1987)5月7日

優先権主張 ㉓ 1985年11月4日 ㉔ 米国(US) ㉕ 794937

⑳ 発 明 者 ベーカス, ジェームス・ウィリ アメリカ合衆国イリノイ州60521, ヒンスデール, サウス・リンカーン 826

㉑ 出 願 人 セル・アナラシス・システム アメリカ合衆国イリノイ州60148, ロンバード, アイゼンハウアー・インコーポレーテッド -・レーン・サウス 261

㉒ 代 理 人 弁理士 湯浅 恭三 外4名

㉓ 指 定 国 AT(広域特許), BE(広域特許), CH(広域特許), DE(広域特許), FR(広域特許), GB(広域特許), IT(広域特許), JP, LU(広域特許), NL(広域特許), SE(広域特許)

## 請 求 の 範 囲

1. 自動分析装置における支持部上の細胞被検体を分析する方法において、

自動細胞被検体分析装置に基準の校正物質と試料の細胞被検体とを有する支持手段を提供し、

該支持手段上の校正物質を光源および像形成装置により分析し、該分析に基づいて前記装置の調整を行なうことにより、自動細胞被検体分析装置の校正を行ない、

前記支持手段上の前記試料の細胞被検体を測定して分析するステップからなることを特徴とする方法、

2. 前記校正物質が基準の細胞被検体からなり、校正に先立ち、前記基準細胞被検体と前記試料細胞被検体を同時に画像強調物質を用いて処理するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第1項記載の方法、

3. 前記校正物質が光学的濃度の基準物質であり、前記校正ステップが、既知の光学的濃度の基準物質に対して分析装置の光学系の調整を行なうステップを含むことを特徴とする請求の範囲第1項記載の方法、

4. 前記校正物質を基準の位置マークとしても用いて前記光学系の調整時に前記支持手段に対する基準位置を同時に提示するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第3項記載の方法、

5. 前記校正物質が基準の細胞被検体からなり、前記

試料の細胞被検体が細胞であり、かつ校正に先立ち前記基準の細胞被検体および試料の細胞被検体を同時に染色するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第1項記載の方法、

6. 前記染色ステップが細胞中のDNAを染色するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第5項記載の方法、

7. 試料および基準の細胞内のDNAを染色する前記ステップを含むことを特徴とする請求の範囲第6項記載の方法、

8. 基準物質が基準細胞被検体からなり、かつ前記試料細胞被検体および基準細胞被検体に対して各々単分岐系の抗体を結合するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第1項記載の方法、

9. 画像強調物質を用いて前記基準細胞被検体および試料細胞被検体を処理する別のステップを含むことを特徴とする請求の範囲第8項記載の方法、

10. 前記単分岐系抗体が酵素で標識され、かつ前記処理ステップが該酵素が反応して画像の強調を行なう物質を供給するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第9項記載の方法、

11. 前記単分岐系の抗体が前記試料細胞被検体および基準細胞被検体中のエストロゲンの受容体に結合することを特徴とする請求の範囲第10項記載の方法、

12. 前記単分岐系の抗体が蛍光物質で標識されることを

特徴とする請求の範囲第8項記載の方法。

13. 前記蛍光物質の蛍光を付勢する波長で前記細胞被検体上の蛍光物質を付勢し、蛍光が発生する別の波長で観察するステップにより分析するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第11項記載の方法。

14. 前記分析が特定のピールスに対するものであり、前記基準細胞被検体および試料細胞被検体が前記ピールスのゲノムに対して特定の核酸プローブで処理されることを特徴とする請求の範囲第1項記載の方法。

15. 試料の細胞被検体の光学的濃度を判定する細胞の分析方法において、

支持部に基準領域と試料領域とを設け、

前記基準領域に予め定めた光学的濃度の基準の細胞被検体を提供し、

前記試料領域に未知の光学的濃度の試料の細胞被検体を提供し、

前記基準細胞被検体の光学的濃度を測定し、

前記基準細胞被検体の前記の測定した光学的濃度および前記基準の細胞被検体の前記の予め定めた光学的濃度から濃度要因を決定し、

前記試料の細胞被検体の光学的濃度を測定し、

前記試料の細胞被検体の前記の測定した光学的濃度および前記濃度因数から前記の試料細胞被検体の真の

光学的濃度を決定するステップからなることを特徴とする方法。

16. 前記の決定された真の光学的濃度から前記試料細胞被検体の物理的特性を決定するステップを更に含むことを特徴とする請求の範囲第5項記載の方法。

17. 前記基準細胞被検体と試料細胞被検体とが赤血球であり、前記の決定された物理的特性が平均的な細胞のヘモグロビン成分であることを特徴とする請求の範囲第6項記載の方法。

18. 試料の細胞を自動的に分析するための装置において、

前記基準パラメータが、染色プロセスによる基準細胞被検体の光学的濃度における変化を示す一要因であることを特徴とする請求の範囲第5項記載の装置。

19. 試料の細胞を自動的に分析するための装置において、

前記染料が、前記基準細胞被検体および前記試料細胞被検体の各部を選択的に染色することを特徴とする請求の範囲第8項記載の装置。

20. 試料の細胞を自動的に分析するための装置において、

校正のための前記手段が、

スライドの校正領域からの光の強さの分布を表示する手段と、

表示された分布状態が基準の分布状態と実質的に

整合するように光源の方向を調整する手段とを含むことを特徴とする請求の範囲第5項記載の装置。

21. 試料の細胞を自動的に分析するための装置であって、前記校正領域が、各々関連する光の強さを有するピクセルに分割され、前記表示手段が、

ある範囲の異なる光の強さと、該異なる強さを有する前記校正領域のピクセル数とを表示する手段を含むことを特徴とする請求の範囲第10項記載の装置。

22. 自動化された細胞分析システムのための顕微鏡用スライドにおいて、該スライドが

試料の細胞被検体領域と基準領域とをその片側に有する支持部を含み、前記基準領域が分析装置の校正のため該装置により検出することができる予め定めた物理的特性を有する基準手段を含むことを特徴とする顕微鏡用スライド。

23. 前記支持部が更に、

該前記スライドの保全性を検証するため前記分析装置により識別し得る予め固定された光学的パターンを有する基準領域を含むことを特徴とする請求の範囲第12項記載の顕微鏡用スライド。

24. 前記基準領域が更に、

前記分析装置により測定できかつ識別することができる予め定めた光学的濃度の光学的パターンを有する合焦領域を含むことを特徴とする請求の範囲第12項記載の顕微鏡用スライド。

25. 前記光学的識別パターンが、該パターンの1つ以上の識別可能な特徴間の物理的距離を測定することにより識別することができることを特徴とする請求の範囲第13項記載の顕微鏡用スライド。

26. 前記基準領域が視覚的に検出し得るパターンにより描写されることを特徴とする請求の範囲第12項記載の顕微鏡用スライド。

27. 前記スライドが更に、

自動化された細胞の分析システムに対する位置決め基準として役立つ識別可能な特徴を含むことを特徴とする請求の範囲第12項記載の顕微鏡用スライド。

28. 自動的な細胞分析装置と共に使用可能な支持部上の細胞被検体を分析する方法において、

前記支持部上に試料の細胞被検体を置き、

該細胞被検体を分析するため前記装置に支持部を定置し、

細胞の分析装置において使用される有効な支持部であるかどうかを判定するため、該支持部上の保全検査を行ない、

前記支持部が妥当でなければ、試料の細胞被検体の分析から前記分析装置を解除し、

前記支持部が妥当であれば、該支持部上の細胞被検体の分析を許容するステップからなることを特徴とする方法。

29. 前記保全性検査を行なうステップが、予め定めた

光学的基準について前記支持部の光学的検査を含むことを特徴とする請求の範囲第28項記載の方法。

30. 自動化された細胞分析システムにおいて、

合焦手段を併せた顕微鏡と、

該顕微鏡上に取付けられる、試料スライドが細胞分析システムにおける使用が許容されるかどうかを識別する少なくとも1つの物理的特性を持つ試料の細胞を含む試料スライドと、

前記顕微鏡上に設置された時該スライド上の試料細胞を照明する光源と、

前記顕微鏡および前記スライドを相互に位置決めするための定置手段と、

前記スライドの特性位置の光学的強度を1つの光学的値に変換する手段と、

該光学的値を受取り、これから前記試料の細胞の特性を分析する手段と、

前記光学的値を受取り、前記スライドの前記の少なくとも1つの物理的特性を識別する手段と、

前記スライドの前記少なくとも1つの物理的特性が識別されるならば、前記試料分析手段を付勢し、さもなければ前記試料分析手段を消勢する手段とを含むことを特徴とする自動化細胞分析システム。

31. 前記の少なくとも1つの物理的特性が前記光学的値の分析により識別される光学的パターンであることを特徴とする請求の範囲第30項記載の自動化細胞分析

システム。

32. 前記光学的パターンがその物理的大きさにより識別されることを特徴とする請求の範囲第31項記載の自動化細胞分析システム。

33. 前記光学的パターンがその平均的光学的強度により識別されることを特徴とする請求の範囲第31項記載の自動化細胞分析システム。

34. 前記光学的パターンが複数の識別可能な特徴を有することにより識別されることを特徴とする請求の範囲第31項記載の自動化細胞分析システム。

35. 前記光学的パターンが前記の識別可能な特徴の物理的大きさにより識別されることを特徴とする請求の範囲第34項記載の自動化細胞分析システム。

36. 前記光学的パターンが前記の識別可能な特徴の光学的強度により識別されることを特徴とする請求の範囲第34項記載の自動化細胞分析システム。

37. 前記光学的パターンが前記識別可能な特徴を分離する物理的大きさにより識別されることを特徴とする請求の範囲第34項記載の自動化細胞分析システム。

38. 前記の少なくとも1つの物理的特性が前記顕微鏡の助けによらずには識別可能でないことを特徴とする請求の範囲第30項記載の自動化細胞分析システム。

39. 前記の少なくとも1つの物理的特性が前記識別手段の助けによらずには識別可能でないことを特徴とする請求の範囲第30項記載の自動化細胞分析システム。

40. 試料細胞の光学的強度を決定するための細胞分析方法において、

基準領域と試料領域とをスライドに提供し、

予め定めた光学的強度の基準細胞を前記基準領域に提供し、

前記試料領域に未知の光学的強度の試料細胞を提供し、

前記基準細胞被検体と前記試料細胞被検体の両方を同じ染料で染色し、

染色された基準細胞被検体の光学的強度を測定し、

前記の染色された基準細胞被検体の前記の測定された光学的強度と、前記基準細胞被検体の前記の予め定めた光学的強度とから染色因数を決定し、

前記染色された試料細胞の光学的強度を測定し、

前記の染色された試料細胞の前記の測定された光学的強度と、前記染色因数から前記試料細胞の光学的強度を決定するステップからなることを特徴とする方法。

41. 前記の染色ステップが、

前記基準細胞被検体と試料細胞被検体のある部分のみを選択的に染色するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第40項記載の細胞分析方法。

42. 前記基準細胞被検体と前記接触部分細胞被検体とを選択的に染色する前記ステップが、

前記基準細胞被検体と前記試料細胞被検体の核または核の内部物を選択的に染色するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第41項記載の細胞分析方法。

43. 前記試料細胞被検体が有核細胞であることを特徴とする請求の範囲第42項記載の細胞分析方法。

44. 光源で照明される顕微鏡上に設置された試料用スライドの細胞を自動的に分析する装置において、

前記スライド上の校正領域からの光の強さの分布に基いて前記光源を校正する手段と、

前記スライド上の試料領域からの光の強さの分布に基いて試料の細胞を分析する手段と、

前記スライド上の識別領域からの光の強さの分布に基いて前記分析手段を付勢する手段とを設けることを特徴とする自動細胞分析装置。

45. 試料の細胞を自動的に分析する装置において、前記スライドが基準細胞被検体を含む基準領域を有し、更に

前記スライド上の基準領域からの光の強さに基いて基準パラメータを計算する手段を設けることを特徴とする請求の範囲第44項記載の自動細胞分析装置。

46. 試料の細胞を自動的に分析する手段において、

前記基準パラメータが試料の細胞を分析するための前記手段を校正するため用いられることを特徴とする請求の範囲第45項記載の自動細胞分析装置。

47. 試料の細胞を自動的に分析する装置において、

前記基準細胞被検体と前記試料細胞被検体が同じ染料により染色されることを特徴とする請求の範囲第46項記載の自動細胞分析装置。

48. 試料の細胞を自動的に分析する装置において、

前記基準パラメータが、前記染色プロセスによる基準細胞の光学的強度における変化を示す函数であることを特徴とする請求の範囲第47項記載の自動細胞分析装置。

49. 試料の細胞を自動的に分析する装置において、

前記染料が、前記基準細胞被検体と前記試料細胞被検体の各部を選択的に染色することを特徴とする請求の範囲第48項記載の自動細胞分析装置。

50. 試料の細胞を自動的に分析する装置において、

前記スライドの校正領域からの光の強さの分布を表示する手段と、

前記の表示された分布が實質的に基準分布と整合するように、前記光源の方向を調整する手段とを含むことを特徴とする請求の範囲第49項記載の自動細胞分析装置。

51. 試料の細胞を自動的に分析する装置において、

前記校正領域が、各々関連する長さの強さを有するピクセルに分割され、前記表示手段が、

ある範囲の異なる光の強さと、前記の異なる強さを有する前記校正領域のピクセル数とを表示する手段

該スライドを移動させる手段と、

分析されつつある前記スライド上の場所を判定する手段とを含むことを特徴とする請求の範囲第51項記載の自動細胞分析装置。

57. 試料の細胞を自動的に分析する装置において、前記判定手段が、

前記スライド上の場所領域の光の分布に従って該スライド上の基準場所を判定する手段を含むことを特徴とする請求の範囲第56項記載の自動細胞分析装置。

58. 光学的強度測定装置により試料の血球中のヘモグロビン成分を測定する方法において、

予め定めたヘモグロビン成分値を有する基準の血球をスライド上に提供し、

該スライド上に試料の血球を配置し、

前記基準血球の既知のヘモグロビン成分値に対して前記光学的強度装置を校正し、

前記試料の血球の光学的強度を測定し、

前記試料血球に対するヘモグロビン成分値を算出す出力を生じるステップからなることを特徴とする方法。

59. 個々の試料の血球のヘモグロビン成分値を測定し、かつ該試料血球に対する血球の平均ヘモグロビン成分値を計算するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第58項記載の方法。

を含むことを特徴とする請求の範囲第50項記載の自動細胞分析装置。

52. 試料の細胞を自動的に分析する装置において、

前記基準分布が、特定の強さを呈すべき前記校正領域のピクセル数を表わすことを特徴とする請求の範囲第51項記載の自動細胞分析装置。

53. 接触部分の細胞を自動的に分析する装置において、

前記分析手段が、

試料の細胞に含まれるDNA量を決定する手段を含むことを特徴とする請求の範囲第54項記載の自動細胞分析装置。

54. 試料の細胞を自動的に分析する装置において、前記分析手段が更に、

相対的なDNA量を有する試料の細胞の数を決定する手段を含むことを特徴とする請求の範囲第53項記載の自動細胞分析装置。

55. 試料の細胞を自動的に分析する装置において、前記分析手段が更に、

前記試料の細胞の分布を示して、ある範囲のDNA量の値にわたり相対的DNA量を有する細胞数を表示する手段を更に含むことを特徴とする請求の範囲第54項記載の自動細胞分析装置。

56. 試料の細胞を自動的に分析する装置において、

前記スライド上の異なる領域が分析できるように

59. 顕微鏡の段部を位置決めする装置において、

XおよびY軸方向に運動可能な顕微鏡の段部と、

指標スケールを有する条片を含み、かつX軸方向の該条片とリーダ間の相対運動により前記スケールを検出する検出ヘッドを含む顕微鏡の段部に対するX軸方向センサと、

指標スケールを有する条片を含み、かつY軸方向の該条片とリーダ間の相対運動により前記スケールを検出する検出ヘッドを含む顕微鏡の段部に対するY軸方向センサと、

前記ヘッドの各々と結合されて、前記顕微鏡段部のXおよびY座標位置を表わすデジタル出力信号を送出する電気的出力手段とを設けることを特徴とする顕微鏡の段部。

61. あるパラメータについて細胞被検体を分析する対照的方法において、

分析のための試料の細胞被検体を調製して、基準の細胞被検体に隣接する試料の細胞被検体を見出し、

画像分析を助けるため類似の方法で試料細胞被検体と基準細胞被検体とを処理し、

複数の連続する領域の各々において前記試料の細胞被検体の拡大された画像を撮影し、

画像の分析のため各領域における試料細胞被検体のある画像を接触して、画像分析のための領域における他の画像を排除し、

与えられたパラメータについて定量的データに対する選択された細胞被検体を分析するステップからなることを特徴とする方法。

62. 再び見出された領域における細胞被検体を以降に照合するため、領域を再び見出す際に使用される各領域の場所を格納するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第60項記載の方法。

63. 更に、

選択された細胞被検体を広い種別に手先により分類するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第61項記載の方法。

64. 前記の選択された細胞被検体を正常な細胞と異なる種類の癌細胞の種別に分類するステップを更に含むことを特徴とする請求の範囲第63項記載の方法。

65. 与えられたパラメータについて細胞被検体の小集団を分析する対話的方法において、

画像のデジタル処理によりユーザ/観察者に対し細胞被検体の拡大された領域を提供し、

いくつかの細胞被検体の各々をユーザ/観察者の観察した形態基準で選別し、

選別された小集団の少なくとも1つのパラメータ分布を生じるステップからなることを特徴とする方法。

66. 前記選別ステップが、悪性腫瘍の細胞被検体を少なくとも1つの小集団に選別するステップを含む、

方法。

70. 細胞被検体のDNA成分の1モードを生成し、かつ前記細胞被検体のDNA成分の粗い解像度の表示と共に、前記の微細な解像度の定量的パラメータとしてのモードを表示するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第68項記載の方法。

71. ユーザ/観察者の形態基準に基いて前記細胞被検体を小集団に選別して、該細胞被検体の小集団のDNA成分モードを生じるステップを含むことを特徴とする請求の範囲第68項記載の方法。

72. 画像分析により担体上の細胞被検体を分析する対話的方法において、

担体上にの試料の細胞被検体と校正用細胞被検体とを提供し、

前記校正用細胞被検体を調べることにより画像分析装置を校正し、かつ1つの細胞被検体パラメータを測定してこの測定結果を実際の質量数と関連付け、

画像分析により試料細胞被検体を分析して、前記校正プロセスの間に得た質量数と関連したパラメータを測定し、

試料の細胞被検体の集団について前記の測定されたパラメータの分布度を生成し、

該パラメータ分布度を質量単位に従って座標スケール上に提示するステップを含むことを特徴とする方法。

前記生成ステップが選別された悪性腫瘍の細胞被検体の小集団におけるDNAの測定値を含むことを特徴とする請求の範囲第65項記載の方法。

67. 前記選別ステップが、ユーザが前記細胞被検体を正常な細胞被検体の小集団と、いくつかの異常な細胞被検体の小集団の1つとに選別するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第65項記載の方法。

68. 前記細胞被検体の小集団が、細胞被検体の全集団の小部分であることを特徴とする請求の範囲第65項記載の方法。

69. 細胞被検体のあるパラメータ分布の表示のため高い精度を提供するよう細胞被検体を分析する方法において、

画像分析により細胞被検体を調べて、与えられたパラメータについて前記細胞被検体を測定し、

前記細胞のパラメータの測定値を、第1の微細な解像度においてある大きさの測定に従って格納ビンに格納し、

該格納ビンからの格納されたパラメータ情報を表示のための粗い解像度に統合し、

統合された該パラメータ情報の粗い解像度をパラメータ分布として表示し、

表示された統合された粗い解像度のパラメータ情報に基いて微細な解像度の定量的な分布パラメータをレポートするステップからなることを特徴とする

73. 実際の質量数がピコグラム単位の細胞中のDNA量あることを特徴とする請求の範囲第72項記載の方法。

74. DNAの相対値を提示するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第73項記載の方法。

75. パラメータ分布度に対する主なピークを提示し、また前記パラメータ分布度に対する2番目のピークを提示するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第72項記載の方法。

76. 画像分析により担体上の細胞被検体を分析する対話的方法において、

DNAの質量に従って細胞被検体のパラメータを格納して測定された少なくとも1つの細胞被検体のパラメータについて画像分析により細胞被検体を調べ、

第1のピークに対する計算されたパラメータ分布数により第1のピークと第2のピークとを示す測定されたパラメータのパラメータ分布を生じ、

前記第2のピークの位置を認識してこれを選択し、また分析装置を操作して第2のピークに対するパラメータ分布数を計算するステップからなることを特徴とする方法。

77. 前記第1のピークと前記第2のピークに対するモードを生成するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第76項記載の方法。

78. 運動可能なプラットフォームの位置を生成する手段

と、該プラットフォーム上にスライドを載置する手段と、該スライドの画像領域を根拠する手段と、データを格納するメモリーと、前記プラットフォームの位置を生成する前記手段からの位置データを表示する手段とを備えた画像分析システムを用いてスライド上の細胞被検体の校正を検証する方法において、

前記プラットフォーム上の基準位置に前記スライドを定置し、

前記根拠手段により前記スライド上のランドマークを見るように前記プラットフォームを移動し、

該ランドマークの位置を格納し、

前記プラットフォームの位置データ発生手段からの位置データを、前記基準スライド位置および前記ランドマーク位置に基いてスライド位置データに翻訳し、

前記領域における前記細胞被検体の視覚的な分類と対応する特定の画像領域に対するスライド位置データを格納し、

前記表示手段において<sup>1)</sup>格納されたスライド位置データを表示し、

以て格納されたスライド位置に対応する画像領域を、該画像領域の表示された位置が画像領域の格納された位置に等しくなるまで前記プラットフォームを移動することにより、前記分類の妥当性検査を行なうため見える位置に置くことができることを特徴とする方法。

前記染色された細胞被検体の光学的強度を測定することにより前記染色された細胞被検体のDNA質量を定量するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第78項記載の方法。

84. 細胞被検体の分析および分類のための、また前に分類された細胞被検体の人の視認により後でスライド上の細胞被検体の分類の妥当性検査のための画像分析装置において、前記細胞被検体を観察するための顕微鏡を備え、かつ細胞被検体を載置したスライドを支持するための可動のプラットフォームを含む画像分析手段と、

前記プラットフォーム上の予め定めた場所に前記スライドを取付けるための前記プラットフォーム上の装置と、

前記スライド上のランドマークの場所を生じ、かつ分析されるべき多くの視野の各々について1つの場所を生成する手段と、

前記スライド上の細胞被検体を観察して該細胞被検体を種別に分類する画像分析手段と、

各細胞被検体の分類を格納し、かつ後で再び検索するため前記スライド上の細胞被検体の場所を格納する手段と、

オペレータが、特定の種別における細胞被検体を選択的に観察することにより細胞被検体の元の分類を後で妥当性検査することを許容するよう

71. 前記スライドの位置の1つの座標を決定するため第1の線形センサを跳出し、

前記スライドの位置の分析の座標を決定するため前記第1のセンサに直交する前記プラットフォーム上に置かれた第2の線形センサを跳出すステップを更に含むことを特徴とする請求の範囲第78項記載の方法。

80. 前記第1と第2の線形センサを周期的に跳出し、

前記スライドに対する実時間位置が前記表示手段において表示されるように前記周期的跳出し結果を表示するステップを更に含むことを特徴とする請求の範囲第78項記載の方法。

81. 前記スライドの位置データを格納する前記ステップが更に、

前記スライドの位置データと対応する視覚的画像を格納するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第78項記載の方法。

82. 前記細胞被検体が人間が保有するDNAからの細胞であり、前記試料の細胞被検体を調製するステップが、

前記細胞被検体の他の特徴と比較されるDNAの対照を強調するためアジャ・ア・フォイルゲン染料で該細胞被検体を選択的に染色するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第78項記載の方法。

83. 前記パラメータを測定するステップが、

に前に分類された細胞被検体の人による観察のための観察手段とを設けることを特徴とする画像分析装置。

85. 前記画像分析装置による元の分類時における正常もしくは癌性の如き種別で細胞を人により分類するための手動操作手段を設けることを特徴とする請求の範囲第84項記載の画像分析装置。

86. 前記スライド上の細胞被検体に対する他の場所の位置が決定される等のXおよびY座標を確定するためのランドマークを有するスライドを設けることを特徴とする請求の範囲第84項記載の画像分析装置。

87. オペレータが格納された場所の位置および細胞被検体に対して同時にプラットフォームを移動することができるように、前記観察装置におけるプラットフォームに対する場所の位置を表示する装置を設けることを特徴とする請求の範囲第84項記載の装置。

88. 前記画像分析装置が、領域内に複数の細胞被検体を有する前記観察手段における領域を示し、かつ前記観察手段がいくつかの細胞被検体を含む領域の場所を示し、これによりオペレータが該領域に戻って該領域におけるいくつかの細胞試料または細胞被検体を見出すことを許容することを特徴とする請求の範囲第84項記載の装置。

89. 細胞被検体を分析して分類し、後で前に分類した細胞被検体の人による観察によりスライド上の細胞被検体の分類を妥当性検査するための画像分析方法において、

前記細胞被検体を観察するための顕微鏡を備え、細胞被検体をその上に載置したスライドを支持するための可動プラットフォームを含む画像分析手段を設け、

該スライドを前記プラットフォーム上の予め定められた場所に載置し、

前記スライド上のランドマークの位置を生成して格納し、また分析されるべき細胞の多数の観察毎に場所の位置を生成して格納し、

画像分析手法により前記スライド上の細胞被検体を分析して、該細胞被検体を種別に分類し、

各細胞被検体の分類を格納し、かつ後の再検査のため前記スライド上の細胞被検体の場所の位置を格納し、

後で前記スライドを前記プラットフォーム上に再び挿入して、前記スライド上の前記ランドマーク位置を見出し、かつ前記細胞被検体の場所におけるその1つに戻ってその前の分類の妥当性について該細胞被検体を観察するステップからなることを特徴とする方法。

90. 前記画像分析手段による元の自動化された分類時に

し、

患者の細胞被検体の画像分析を行なって、患者の細胞被検体を分類し、

患者の識別を格納し、かつ前記スライド上の分類された細胞被検体の場所を格納し、

患者の細胞被検体の分類についてレポートを生成し、

前記の予め定めた位置におけるスライドを再び見出した後前に格納された場所における細胞被検体を観察するため該スライドを移動することにより患者の細胞被検体の分類を後で再び観察するステップを含むことを特徴とする方法。

における正常もしくは癌性の如き種類によりオペレータが細胞被検体を分類するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第89項記載の方法。

91. 前記プラットフォームおよびその上にランドマークを有する前に分類したスライドを移動し、検査される細胞被検体に対するXおよびY座標に達するまで、前記ランドマーク位置からの零のXおよびY座標を観察するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第90項記載の方法。

92. オペレータが前記プラットフォームを前に格納された場所の位置へ移動することができるように観察手段において前記細胞被検体に対する場所を表示し、前記場所および細胞被検体を同時に観察するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第91項記載の方法。

93. 前記観察手段において前記領域の複数の細胞被検体を有する領域を表示し、いくつかの細胞被検体を保有する領域の場所を表示し、ある細胞被検体を除きかつ元の分類について前記領域における他の細胞被検体を選択するステップを含むことを特徴とする請求の範囲第92項記載の方法。

94. 患者の細胞被検体を載置したスライドから患者の細胞分析の妥当性検査を行なう方法において、

予め定めた位置にスライドを定置し、前記細胞被検体の場所が測定される前記スライド上の零位置を確立

## 明 細 書

### (発明の名称)

生体検本用の分析方法および装置

### (技術分野)

本発明は、画像分析による細胞被検体の特徴およびパラメータの測定に関し、特に小さな細胞集団におけるDNAの分析のための定量的測定方法および装置に関する。

### (従来技術)

本発明は、種々の細胞、抗原または人体から取出された他の生体試料の広い範囲の診断および予後の評価のため用いることができる定量的な試験の装置および方法に対するものである。しかし、例示目的および理解の容易のため、本発明については癌の診断および予後診断の目的のための細胞のDNA(デオキシリボ核酸)の定量的測定である、その望ましい用途に関して開示することにする。更に、本発明は、人体から取出された細胞試料中のDNAを分析して量的に確定するための対話的な画像分析の方法に対するものである。

病理学研究室における技術の現在の状態は、主として狭いある癌細胞の形状および組織を観察し、次いで細胞を1つの通常のカテゴリもしくはいくつかの異常座のカテゴリの1つに分類する病理学者の視覚的な観察に



より、細胞のDNA成分を測定することである。しかし、このような評価は非常に主観的であり、個々の細胞中あるいは異常細胞の非常に小さな集団中のDNAの小さな変化を見分けて量的に確定することができない。これらの小さな変化は、癌の初期の段階あるいは化学療法もしくは放射線治療による癌の処理による細胞構造における変化を示す。従って、このような小さな変化は、これらの病気の診断および予後において重要である。

しかし、顕微鏡下で試料を観察中の病理学者が見出す異常な倍散性の分布の診断および(または)予後における利点は、細胞を通常もしくは異常なものとして分類する際の習熟した人員の明確な専門的知見である。比較的敏感な細かな分類階層、即ちほとんど正常である、僅かに異常である、等の分類を行なうためには人間の先天的な能力がある。一方、病理学者による細胞単位における細胞の特徴およびパラメータの分類および測定は非常に早期で時間を要するものである。このような人手で採取された細胞のデータの広い統計的分析は、各記録を入力した後処理しなければならぬため、比較的難しい。異なる時間および種々の条件の下で採取された異なる記録の場合は、広範な統計的分類は信頼性が劣るおそれがある。

代替法は自動化された細胞分析であり、この場合病理学者は分析を行なうため特殊な装置を使用する。

更に、実値による自動もしくは人手によるこのような細胞分析の場合には、何等かの結果の変動が生じる。検証を行なうための通常の科学的な方法は、別の病理学者がその分析を先行者のそれと比較できるように試料を保管することである。しかし、人的な手段により分類される個々の細胞においては、このことは写真、図面もしくは他の不正確な媒体を示すが、これは長期にわたって組織の試料を固定することが非常に困難である故である。更に、このような試料が後の観察のため充分に固定される如き手法による場合でさえ、最初の評価が行なわれたものから同じ細胞あるいは細胞の小さな集団を見出して観察のため同じ条件を与えることの問題が残る。自動化された方法においては、試料は消費され、また検証は同じ部位からの類似の組織の観察によってのみ行なうことができるに過ぎない。

#### (発明の概要)

本発明は、病理学者またはオペレータによる対話的なプロセスによって非常に迅速に複数の個々の細胞に関する定量的なデータを得ることができる測定の方法および装置を提供することにより、細胞被検体の種々の特徴およびパラメータの画像分析に関する上記および他の問題を解決するものである。本装置は、顕微鏡のスライドの一領域からの細胞グループの画像を表示するための装置を提供する。この画像は更に計数化

フロー・サイクロメータによる行なわれる如き自動化された細胞分析においては、ある試料の細胞集団について大量のテストがまとめて行なわれ、研究者が集団のあるデータを排除あるいは取込むことができない。試料は、どの細胞がどれだけ測定中であるかを実際に知ることなく「あるがままに」測定される。重要な1つの細胞のデータあるいは比較的小さなグループの細胞からのデータは1つの試料の全体的な平均化において失われる。更に、平均化の問題の故に精度を得るためには比較的大量の試料を使用しなければならない。このことは、結果の精度がかなり良好となるように大量の細胞データを比較的迅速に処理するため従来技術において必要であると考えられてきた。再び、個々の細胞における小さな変化あるいは小さな細胞集団は識別できない。

商業的に入手可能な汎用目的のフロー型血球計算機があるが、これらは非常に高価であり、単に液状の血液試料もしくは組織の懸液状態しか処理できない。これらの血球計算機は、標準的な組織片について用いることができず、あるいは病理学研究室の選好される試料形態である従来の顕微鏡用切片を使用することができない。更に、フロー型の血球計算機は細胞核の組織、大きさおよび形状、および細胞の核対細胞質の比率における変化の如き細胞の形態学的な特徴の分析は許さない。

されて、装置のメモリー内に格納される。計数化された画像から、プロセッサ装置がパターン認識技術により自動的に可能な各細胞被検体を識別する。対話的なプログラムは、オペレータが各被検体即ち細胞に次々に焦点を合せて、それぞれに関する分類および測定のための決定を行なうことを可能にする。定量的なDNA分析のためには、測定は細胞被検体の光学的密度により、また分類は細胞が正常であるかあるいは癌に見えるかについて病理学者によってなされる。この決定は、特定の細胞が異なる処理を受入れるか拒絶するかを判定を含み得る。細胞被検体は、選定されるならば、後の統計的な分析のためいくつかの分類の1つに分類することもできる。本装置は更に、分類を行ない1つ以上の画像を格納する手段を有する。

本発明が提供する特徴の1つは、表示される前にデータに対する閾値を提供することにより画像の強化を行なうことである。表示された画像は、画像領域の計数を形成する複数の要素(ピクセル)と対応している。このような閾値に達しない部分では、表示におけるピクセルが白、即ち情報が存在しないものとして示される。閾値以上のグレー・スケールの画像は残るピクセルについて表示される。この特徴は有利にも背景のクラッタを低下させ、また領域内の細胞被検体の視覚的な特徴を強化する。閾値は変動し得、また他の特徴

を強化しながらある特徴をマスクするため使用することができる。低れたコントラストの差異を生じるように、閾値以上にはグレーの解像度の完全スケールを用いられる。

本発明の別の特徴は、測定されたデータの検証を行なう。各画像即ち領域が計数化されて格納されると、基準値がデータと共に格納される。この基準値は、スライド上の測定された座標の原点からの画像の相対的なX軸とY軸の位置である。本発明は、観察中のスライドの領域の実際の位置を表示するための手段を提供する。従って、前に格納された画像を検証するためには、スライドを基準に対してその実際に表示された位置が格納された基準位置と整合するまで置き直されて定置される。このため、対象物のデータおよび分析がスライドからのデータ画像によってのみ検証できるのではなく、分析に用いられる実際のスライド像を容易に見出すことができる。

本装置をDNA分析のため使用する時、組織および細胞の試料はスライドに装着され、次いでこれをDNAと比例的に結合して細胞の残部を実質的に見えなくする特定の染料で染色し、その結果画像の分析は細胞の核に集中されるDNAの光学的濃度を測定することができるようにする。分類のため本装置を用いて病理学者による視覚的な観察および解釈が可能な詳細な核の構造およびパターンを提供するため、染料はDNA

と関連する。悪性の細胞中のDNAの量は正常な細胞のそれよりもかなり大きい。これは悪性の細胞が通常迅速に分裂してこれを補償するためであり、あるいは悪性の細胞が異常な染色体数を有しあるいは欠陥のある染色体を有する故である。

本発明の望ましいかつ例示的な装置は、ピコグラム(1兆分の1g)単位のDNAの実際の正確な測定を行なうことにより核中の微小な変化を検出し得るのみでなく、DNAの量を測定して量的に確定しかつこれを格納された統計的分析と関連付けて診断を助けることもできる。更に、本発明は、試料の集団の細胞の対話的な分析を許容し、また細胞のDNA内容に関する、また正常な細胞に対する標準的なDNAに関する細胞の集団の分布のヒストグラムあるいは他の統計的な表示を行ない、集団の分布における微妙な変化を容易に理解することができるようにする。この目的のため、細胞核の画像を得て格納される許りでなく、それからのデータを多変数分析、細胞の識別、ヒストグラムおよび細胞または細胞の集団の散布図を提供するため他の統計的データで積分することができる。

画像分析手法および従来の病理学研究室における病理学者による染色された試料のための装置の使用は、本発明により克服された多くの問題を解決することに伴う。例えば、以下本文において述べるアウター・ア

フイルゲン(Azure A Foulgen)染色法の如き使用し得る多くの利用可能な染色技術があるが、病理学者によるDNAの染色は単にスライド毎およびパッチ毎に異なるに止まらず、異なる病理学者および異なる研究室間でもかなりの変動が生じることになる。今日の画像分析装置はグレー・レベル即ち光学的濃度を測定する故に、またピコグラム単位のDNAの真の実際の行なうことが要求される故に、異なる試料における異なる染色要因の問題を克服することが重要となる。また、調整可能な顕微鏡および光学的照明を用いる画像分析法は、病理学者により使用される時光の異なる強さを生じる。研究施設の訓練された研究者達は、画像パターン法による画像分析のため必要な条件に対し光学的な強さを調整すべき用意をするが、これは一般に通常の病理学研究室において必要とされる精度を以て達成することはできない。このため、この光の強さ、従って変動し得る光学的濃度の問題を克服する必要がある。

更に、本発明は、これまで画像分析に用いられた自動化装置と関連した高コストの問題を克服することに向けられ、またこの目的のため、本発明は病理学者が多くの仕事を行ないかつ細胞の準備および装置の操作によるその選択を行なう取扱いの容易な対話的システムを提供するものである。また、病理学者は、試料の細胞の分析において助けとなりかつ上記の染色問題の克服の助けと

なる特に基準細胞により準備されかつ校正が行なわれるスライドが提供される。

本発明は特に、形態学に関する検査のため細胞を定置するため、また必要に応じて第2の病理学者による以降の分析または検証のためその位置を保存するため開発されたものである。以下において説明するように、核に関する測定結果は、 $\mu$ 単位のその面積、核の総光学的濃度即ちピコグラム単位の核質量、平均核光学的濃度、核組織、および核の円形状からの形状の変化について得ることができる。

従って、本発明の一般的な目的は、画像分析法を用いることにより細胞その他の生体材料の分析のための新しい改善された方法および装置の提供にある。

本発明の別の目的は、画像パターン認識装置を用いて細胞の定量的な倍数性の分析を行なうための新しい改善された方法および装置の提供にある。

本発明の他の目的は、画像分析装置の校正を行なうため用いられる基準細胞または細胞被覆体を設置した試料の細胞のための新しい改善されたスライド即ち支持板の提供にある。

本発明の上記および他の目的、特徴および特質については、図面に関して以下の詳細な記述を読めば明らかになるであろう。

(図面の簡単な説明)

第1図は発明により構成された画像分析システムの

概略図。

第2図は本発明による画像分析法を実施するための第1図に示された画像分析システムの機能的なブロック図。

第2A図は第2図に示されたシステム制御部の主な操作を示すシステム機能図。

第3図は第2図に示されたX軸とY軸の座標位置回路のためのインターフェース電子素子の電気的ブロック図。

第4図は第2図に示されたインターフェース素子に対する入力に対する時間的な波形を示すグラフ。

第5A図、第5B図および第5C図は、校正細胞被検体および試料細胞被検体に対する個々の領域を有する第1図に示された画像分析システムにおいて特に使用されるためのスライドをそれぞれ示す斜視図、平面図および断面図。

第6図乃至第9図は異なる正常および異常な細胞集団に対するヒストグラムを示す図。

第10図は第1図に示された命令モニターにおいて視認し得る異なるスクリーン画像を示す概略図。

第11図は第1図に示される命令モニターに現われた主なスクリーン画像を示す図。

第12図は第1図に示される命令モニターに現われた校正画像スクリーンを示す図。

第13図は第1図に示された命令モニターに現われる

分析スクリーン画像を示す図。

第14図は第1図に示された命令モニターに現われるXおよびY座標のスクリーン画像を示す図。

第15図は第11図に示された主スクリーンに対する選択リストの図。

第16図は第12図に示された校正スクリーンに対する選択リストの図。

第17図は第13図に示された分析スクリーンに対する選択リストの図。

第18図は第12図に示された校正スクリーンに対する測定操作を示す概略図。

第19図は第13図に示された分析スクリーンに対する分析操作を示す概略図。

第20図は第1図に示された画像ディスプレイに示される如き細胞被検体の領域のための分析操作の時間的シーケンスを示す概略図。

第21図は第2図に示された画像分析システムにより複数の選択可能な画像領域に分割された画像分析のために用いられるスライドの概略図。

第22図は第2図に示された画像分析システムにおける光源の校正のために用いられるヒストグラムを示す図。

第23図は第1図に示された顕微鏡のプラットフォームのXおよびY座標位置を調取るプログラムを示すフロー・チャート、および

第24図はその機能がそれぞれ第12図および第13図に

示された分析および測定スクリーンに対する分析および測定操作を処理することであるプログラムを示すソフトウェアのフロー・チャートである。

(発明の最良の実施形態)

第1図および第2図に示された装置は、悪性腫瘍および他の疾病の診断および予後の推定のための細胞集団のヒストグラムおよび他の統計的データを生成するため用いることができる。このような統計的分析の利用性を示すため、第6図乃至第9図を参照する。

先ず第6図においては、健康な分裂しない細胞における細胞数対質量の分布を有する正常な倍散性のヒストグラムが示されている。細胞の数が縦軸上に示され、細胞核の質量が横軸上に示されている。もし同図に示される細胞の集団が分裂しなければ、DNAの量は正常ピーク値0.0/0.1付近でピークとなる筈であり、これは2倍体量である2.18ピコグラム/細胞となる。このDNAの相対質量は、ヒストグラムの横軸を正規化するため1.0として示される。第7図もまた分裂状態の正常な細胞集団を示し、この場合は1.0において著しい0.0/0.1ピーク値と2.0の第2のピーク値G2が存在する。2.0においてピーク値は、細胞のあるものが分裂中でありかつDNAの正常な2倍体量の2倍となる故に正常である。この2つのピーク値間の谷部Sは比較的深く、悪性腫瘍を示していない。

第8図のヒストグラムを最初の2つと比較すれば、この細胞集団は略々1.5付近の比較的高い第1のピーク値と3.0付近の第2のピーク値とを有する正常な状態から外れていることが判る。更に、谷部Sは更に深くなり、細胞カウントが難しくなり得る。このヒストグラムは、細胞の多くのDNA量が異常に高い故に悪性腫瘍を示し得る。この高いDNA量は、迅速に分裂中の悪性腫瘍細胞の増加した倍散性を表わすことが多い。同様に、第9図においては、DNAの2倍体量が正常でありながら0.0/0.1ピーク値が1.0で生じるが、比較的大きな後方の谷部が1.0から2.8となることが示されている。正常の0.2の第2のピーク値は示されず、異常な細胞集団を表わしている。ヒストグラムの形状は細胞および悪性腫瘍を表わす細胞の分枝系における以上なDNA量に近い。従って、細胞の分布ヒストグラムにおける形状および変化から、診断および予後の情報を得ることが出来る。

図示された構成においては、本システムは典型的なガラスのスライド上の細胞被検体の画像からその多くの諸特徴およびパラメータを測定するため設計されたコンピュータ支援による画像分析システムである。この計器は、ソフトウェアにより制御されてファイルゲン染色法ならびに他の核の特徴の質量により核のDNA量に対する個々の細胞について定量的な分析を行なう複雑なデジタル画像処理システムを含んでい

る。この画像処理システムは、検討すべき細胞を識別する病理学者の能力をコンピュータで強化された高解像度のデジタル・ビデオ画像処理と結合して、光学的顕微鏡および染色顕微鏡を正確に並行的に決定するものである。

一般に、病理学者は最初に新鮮な組織の薄切標本またはニードル吸引の容易をする。あるいはまた、埋設試料は問題となる領域について視覚的に検査し、次いでペプシンの存在下で細かく刻むことにより、顕微鏡スライド上に載せられる単一の細胞懸濁液を調製するため脂パラフィン包埋および凍解措置を行なうことができる。固定してアジュア・フ・フォイルゲン染料で染色した後、標本は分析の用意ができる。

オペレータは、細胞を形態学的に8つのカテゴリのどれか1つに分類するか、あるいは不適当な細胞または残屑を除去するかを選択を有する。細胞のデータはシステム制御部により処理され、細胞要素が各細胞類別のための定量的なDNA分析によって特徴付けられる。標準的な細胞校正あるいは公刊されたデータのいずれかにより比較した時の情報は、人間が見た画像から単に口頭により記述されるのが通常である異常性を病理学者が正確に定量し分類することを可能にする。

定量的なデータが加わることにより、病理学者がその作業を更に標準化された再現可能な方法において

実施することを可能にする。本システムは、DNA量に基づいて悪性であり得る罹患部を分類し、既知の悪性腫瘍についての予後の情報を得る際に価値を判断する。この画像識別システムは、DNA量を評価する一般的なフロー型血球計算法よりも更に有利である。フロー型血球計算法は、オペレータが細胞のマーカのみに基づいて腫瘍性の細胞を分類することを許容する。しかし、病理学者は計器が検査した細胞は決して調べない。更に、細胞標本は短い時間内に使用されねばならず、研究の過程において買収される。検診中の腫瘍の固定的部分を同時に検査することはできるが、同じ細胞が両方の領域において検査されることの保証はない。また、得られる腫瘍量はフロー型血球計算法を許容するだけ充分に大きくはないかもしれない。

本発明においては、定量的なDNA分析は、検診中の細胞標本におけるDNAおよび倍散性の分布パターンの測定のため迅速に行なわれる。病理学者は、集団の質量において用いられるべき細胞を有効に選択する。DNA量の質量は有効であり、乳房、肺臓、肝臓に属する種々の腫瘍のための診断および予後措置の決定と関連を有するものと考えられる。本システムは、視覚的に異常な細胞を識別するため病理学者の能力を活用し、次いで所要のパラメータを求めてこれら特定の細胞を定量的に分析するためコンピュータ支援画像分析を用いるものである。このような計器は、病理学者の

知見および診断上の技能を拡張しかつこれを補うものである。

例示の目的のため図面に更に特定的に示されるように、本発明は、「細胞被検体」を自動的に分析するための方法および装置において実施されるが、本文においては「細胞被検体」とはDNA量についての分析が行なわれる腫瘍等から取出された血球または細胞の如き細胞の一般概念として用いられる。この用語はまた、生体研究において用いられる従来のプラスチックまたはガラス製の球、スライド上の染色された細胞画像、または細胞における抗原または単一分枝系の抗体を包含することを意図する。本システムは更に、単一分枝系の抗体が染料と共役状態にあり、染料が1つの成長において付勢され従って蛍光が生じる場合に別の成長で分析が可能となる蛍光物質でよい場合に用途を見出すものである。例えば、本発明は、倍散性の分析、赤血球の分析、粘液浸透細胞分析、単分枝系抗体の分析、およびビールスについてDNAプローブにより診断可能な他の伝染病の分析のため有効である。従って、本画像化兼分析システムは、細胞被検体の光学的顕微鏡の如き光学的な特性の1つを用いてある特定の条件における診断または予後措置である前記被検体のあるパラメータまたは特徴を決定するため用いることができる多くの研究において有利に使用される。

第1図および第2図に示されるように、本発明は、デジタル画像処理システム13(第2図)として機能的に作動する装置11として実施される。本装置11は、望ましい実施態様においてはガラスのスライド14である支持台上の試料をオペレータが視認することができる高解像度の顕微鏡15を含む。この顕微鏡15は、その光学系をスライド上に合焦するための手段70と、装置11および17によりその色々の領域を視認するため徐々にXおよびY軸方向に運動可能なプラットフォーム91とを有する。スライド14上の試料即ち物質は画像化システム13により更に視認可能であり、このシステムはパーソナル・コンピュータの如きデジタル・プロセッサの形態のシステムの制御部22によって制御される。オペレータは、キーボード38を介してシステム制御部22と通信して2つのディスプレイを見ることにより本装置11と対話することができる。第1のディスプレイ即ち画像ディスプレイ82は、システム制御部22を介して顕微鏡15を通して見たものと同じ画像を表示するRGBモニターである。第2のディスプレイ即ち命令モニター82は別のRGBモニターであり、オペレータに対話的な指示、メッセージ、情報およびシステム制御部22を制御するプログラムからの命令を与えるため使用される。装置11により与えられたデータの信頼できるハード・コピー出力を生じるためプリンタ38が設けられている。

本装置11の機能の概略図が画像処理システム13として第2図に示されている。この画像処理システム13は、顕微鏡15の支持台即ちガラスのスライド14上の複数の細胞の被検体を分析するため使用される。適当な高解像度の顕微鏡の光学系16がスライド14を介して強さが変更できる光源17から光を受取る。光学系16は、スライド14上に細胞の各被検体の光像を形成し、これをプリズムの形態を取り得る画像スプリッタ25に送出する。

このスプリッタ25の片側においては、テレビジョン・カメラ18または他の検出装置が光学的画像を点単位に画像における各点の光の強さを逐次走査された電子信号に変換する。標準的なNTSC方式のアナログ・ビデオ信号である前記カメラ18の出力は、画像処理インターフェース21のアナログ/デジタル・コンバータに対して加えられる。画像処理インターフェース21は、テレビジョン・カメラ18からの画像信号を計数化された信号に変換し、この信号はシステム制御部22により受取られて格納される。連続的な走査の故に、光学系16が合焦される領域の実時間画像は画像ディスプレイ37によって与えられる。一般に、画像はそれぞれ測定された光の強さを有する512×512列のピクセルである。

画像スプリッタ25の他の側には、顕微鏡15の視野用光学系23が取り付けられている。この焦点を異にする

構成により、視野用光学系23における同じ画像を画像ディスプレイ37上に表示することができる。この特徴のため、オペレータがスライド14上の問題の視野の見えるまで、手動のXおよびY軸方向の調整手段11および17によってプラットフォーム81の位置決めを可能にする。同時に、選択された視野のコンピュータ支援によるデジタル化画像が更に分析を行なうため画像ディスプレイ37兼に表示される。

ディスプレイ37および62の双方は、標準的なビデオ・インターフェース回路39および81を介してそれぞれシステム制御部22により制御される。同様に、キーボード35およびプリンタ38は、従来のインターフェース回路35、41を介してそれぞれシステム制御部22と通信する。更に、システム制御部22は、メモリー制御装置11を介してランダム・アクセス・メモリー73と、フロッピー・ディスクおよびハード・ディスク・ドライブ75の形態の大量記憶装置を制御する。

インターフェース回路21、35、38、41、81、71および105の全ては、システム制御部22を構成する従来のパーソナル・コンピュータの背面即ちカード・コネクタに取付けられる印刷回路板上に選択的に実装することができる。パーソナル・コンピュータはモデル名ATを有するIBM社製のものであることが望ましい。このようなシステム制御装置は、PC DOS 3.1バージョン以降の如きディスクのオペレーティング・

システムの下で走らせることができる。画像の分析のためのシステムのソフトウェアは、ディスク・ドライブ75からの応用プログラムと呼ばれ、例えば、フロッピー・ディスク77で供給することができる。システムのソフトウェアは、ディスク77から読出され、RAM 73にロードされる。プログラムのロードの後、制御は分析ソフトウェアへ送られて、公知の方法で前に述べた種々のハードウェアを調整する。

分析ソフトウェアは、以下本文に述べるDNA分析のためのものでよく、あるいは種々の目的のための他のソフトウェアを含むことも可能である。例えば、赤血球の検査の際の細胞の形状および大きさ、ならびに細胞のヘモグロビン量の分析は、本文に参考のため引用されるBacusの米国特許第4,097,845号および同第4,199,748号に開示されたパターン認識手法および分析方法に従って行なうことができる。

第2A図は、計測のハードウェアのための制御ロジック、画像ディスプレイおよび命令ディスプレイを用いて主なシステムの機能を実行するシステムのソフトウェアの機能的な操作を示している。主なシステムの機能は、患者のラベル番号付け、光量の校正、基準細胞の校正、細胞のデータ取得、細胞の分類、細胞の分析およびレポートの生成である。

インターフェース要素108を除くインターフェース回路は、図示した種々の機能のための標準的な制御

回路でよい。インターフェース素子108は、第3図および第4図において更に詳細に示される専用の回路である。XおよびY座標位置のセンサが、分析中の視野にある位置を表示させる。

各視野のXおよびY座標位置は新設な方法および装置により与えられたどんな位置に対しても容易に決定され、前記装置は第2図に最もよく示されるように、顕微鏡の静止部分に固定された検出パッド102を通過して顕微鏡段部51と共に運動するように、この段部51の下側に固定することができるX軸方向の検出片100を含む。このセンサは、インターフェース素子108に対してアナログ出力を与え、この素子がメモリーに格納してモニター・スクリーン82に表示するためシステム制御部22に対してデジタル形態のX座標を生じる。同様に、類似の検出片110が顕微鏡の静止部分に固定された検出パッド112を通過して段部と共にY軸方向に運動するように段部51に対して固定され、その結果パッドがアナログ信号をインターフェース素子108に対して与え、この素子がY座標の格納のためまたX座標に隣接するビデオ・モニター上のY座標を示すため、デジタル信号を命令制御ロジック122に対して与えることができるようになっている。詳細に述べれば、システムは共に運動するように段部に固定された検出ヘッドと反対にすることができ、またセンサの帯片100および110が静止状態に取付け

られてヘッドがこれを横切って運動する時アナログ信号を生じるようになっている。

位置のセンサとのインターフェース回路は、第3図および第4図において更に詳細に示されている。この位置のセンサはX座標に対する1対のセンサ片100、102およびY座標に対する1対のセンサ片110、112を有する磁気センサである。センサ片100、110は、これら帯片が座標系に対する基準軸を形成するように相互に直角に固定されている。図15の可動基盤に対して固定された運動可能なセンサ・パッド102、112は帯片100と101に沿って移動し、固定帯片に対する可動パッドの相対位置に従って各帯片間の相対運動を検出する。センサは、帯片間の相対位置を測定するため、またこの検出されたパラメータに基いてデジタル数値を生じるための回路を含む測定チップ18に対して接続されている。X軸センサ片100および102は、測定回路18の方向XAおよびXB入力側と接続され、また同様に、Y軸のセンサ片110、112は回路の方向YAおよびYB入力側に対して接続されている。回路18は内部の調時された位置からデジタル値を生じるゼネレータであり、これが出力OXAおよびOYAからの固定片に対する可動パッドの相対的位置に従って3バイトの一連のデジタル数値を出力する。この3バイトの数値は通し番号をなし、調時のためのクロック信号XCLKおよびYCLKを伴う。

各出力は、XまたはY軸のいずれかの位置に対する24ビットの位置のワードのバイトの1つを表わす。これら出力は、デコーダ24の出力Q0～Q3に対して接続された入力回路A、BおよびCにより付随される。アドレス・バス回路A0～A15の入力回路と接続されている。

デコーダ24は、位置のワードの各バイトに対して割当てられた特定のアドレスを翻訳して、データ・バス28上に読込むことができるように、各シフト・レジスタからの所記バイトを使用可能状態にする。例えば、X軸の位置を採取するために、システム制御部22はシフト・レジスタ20のA出力を使用可能にするためデコーダ24により使用されるアドレスを出力し、次いでこのバイトをデータ・バス28を介して読込むことになる。その後、システム制御部22は、シフト・レジスタ20のB出力を使用可能状態にするアドレスを出力し、次いでこのバイトをデータ・バス28から読出すことになる。その後、システム制御部22がシフト・レジスタ20のC出力を使用可能状態にするアドレスを出力し、このバイトを読出すことになる。この操作は、シフト・レジスタ22からのY位置のワードの読出しと同じである。

シフト・レジスタ20、22の読出しおよびローディングは完全に非同期である。XおよびY座標の位置が100ミリ秒毎に更新されるため、このような比較的簡単な

24ビットのこれらバースト信号は各々、約24KHzの周波数にあり、100ミリ秒毎に生じる。従って、測定回路18は、X軸位置に対しては3バイトの数を100ミリ秒毎に生じ、またY軸位置を表わす3バイトの数を100ミリ秒毎に生じる。出力OXAおよびOXBはそれぞれシフト・レジスタ20の直列入力INおよびクロック入力CLKに対して接続されている。同様に、回路18の出力OYAおよびOYBはそれぞれシフト・レジスタ22の直列入力INおよびクロック入力CLKに対して接続される。信号XCLKは位置の数値の24ビットを100ミリ秒毎にシフト・レジスタ20に対してクロック回し調時することになる。この数は、主制御プログラムにより使用されるまで、シフト・レジスタ20に格納される。24ビットのY軸位置は、シフト・レジスタ22の入力側に対して順次に入えられ、100ミリ秒毎に信号YCLKによって装置に対してクロックされる。シフト・レジスタ20、22は、これら位置の数値を測定回路18からの通信バースト間にこれら位置の値を保持するよう作動する。

シフト・レジスタ20、22は、アドレス線形A0～A15およびデータ・バスのそのデータ線形T0～T7によってシステム制御部22に対して接続されている。8ビットのデータ・バスは、シフト・レジスタ20のバイト出力A、BおよびCおよびシフト・レジスタ22のバイト出力A、BおよびCに対して並列に接続されている。

転送方式を構成することができる。もしシフト・レジスタ20、22がコンピュータにより位置のワードが読出されつつある時シフト動作中であるならば、ソフトウェアが適当な比較を行なって、読出された入力数値が適正な値であるか、あるいはこれが読出された時シフト・レジスタが別の数を入力中であったかを判定する。

シフト・レジスタ20、22を読出すサブルーチンのフロー・チャートが更に詳細に第23図に示されている。このサブルーチンは、プラットフォーム11の実際のXおよびY座標の位置を判定するため周期的に呼出すことができる。プログラムは、ブロックA225～A231において2回X軸の位置を読出して格納することにより開始する。この2回が等しい(A=B)かを調べるため比較が行なわれ、もしそうでなければ、最初に再び戻る。ブロック235およびA237における3回目の読出しおよび格納はブロックA239におけるAおよびCの比較に先行する。否定の分岐はプロセスを再び開始するが、肯定の分岐は同じ方法におけるY軸位置の読出しを開始する。この手法は、数値が適正な位置として受入れられる前に整合を行なうため3回の読出しを必要とし、これによりテーブルが移動されたかあるいはシフト・レジスタが読出し間で変更された可能性を排除する。

装置11は画像分析についての習熟度および知識が様々

である人員を擁する病理学研究室の如き種々の仕事場所において使用することができるため、顕微鏡の光線17は、背景が組織毎に異なる光の強さを有する許りでなく、照明を行なうランプの使用年数および性質に従って異なる時点で異なる光量を有するおそれがあるため、異なるオペレータにより種々に調整され得る。細胞被検体がDNA核である時、染色された核は暗く見え、比較的低いあるいは零のDNA量を有する細胞よりも非常に低いグレー・レベルを呈する。特定の光の強さのレベルが正確な実際の方法において既知であることが望ましく、また従って、光の強度における差異が助成されなければ生じるおそれがある誤差を排除するため光の強さの校正が行なわれることが重要となる。

上記の種類の広範囲な装置の使用における別の問題は、使用者が多量もしくは少量のアジャ・フ染料を使用することを意味する染色要因である。この結果、顕微鏡13を介し、またカメラ18によってグレー・レベルの変動が観察されることになり、これが特定のDNA量として値で分析される。このため、分析されつつあるヘモグロビン、DNA、または抗原、あるいは細胞における単一分岐系の抗体等の実際の量の真正な表示を行なうように、装置11が染色要因の故の差異を排除するため校正される必要がある。

本発明によれば、校正材40(第5A図)がスライド14

上に設けられ、これがシステムのソフトウェアの校正ステップの下でオペレータにより観察される時、スライド14上の試料の細胞被検体12の測定および分析に先立ってオペレータが装置の調整および校正を行なうことを許容する。

本発明の例示された実施態様においては、スライド14上には2つの異なる校正材が設けられ、第1の校正材は試料の細胞被検体11の染色と同時に染色された基準となる細胞被検体40である。この同時の染色は、基準細胞被検体の分析を予め定めた格納された基準の光の強さ、グレー・レベルもしくは染色後基準の細胞被検体40が有する光学的強度と比較することを可能にする。もし細胞被検体の染色が明る過ぎるか暗過ぎるならば、染色過少量もしくは染色過剰量が以下に述べるように定量的に分析し調整することができ

る。本発明の望ましい実施態様においては、この校正材はまた、予め定めた既知の光学的強度を有し、計測の校正の基準として使用することができる通常はスライド上に印刷されたマークである光学的強度の基準材45をも含む。以下において更に詳細に説明するように、オペレータに対してシステムのソフトウェアによって指示が与えられる。これらの指示に従って、オペレータは基準材45に対して所望の強さが得られるまで背景の光線17の強さを手動で調整する。以下に説明するよう

に、このステップはシステム制御部22にスライド14上の被検体の適正な光学的強度を誘導するように校正を行なうものである。

システムの保金性に対する安全策として、分析が開始される前にグレー・レベルおよび物理的寸法について読出され測定されたスライド14上の予め定められ予め固定された光学的パターンを分析することにより、スライドに対する保金性検査あるいは識別のステップを提供することが望ましい。この場合、光学的な保金性パターンは第5A図乃至第5C図に示されるような基準となる細胞被検体の上方に配置されたイニシャルC A Sの形態でよい。

第5C図に示される十字52の形態をなす光の校正材45もまた多くの異なる形状および形態を取り得、また実際に、基準細胞被検体に対する境界線54に過ぎない場合も、あるいはまた、顕微鏡13に対する光線が所要の強さまで調整される時予め定めた光学的強度を生じるようにスライドに対して添付されたロゴC A Sその他の識別マークでもよい。

本発明はまた、スライド14上の試料の細胞12の後での分析のためにも有効であり、メモリーに格納された細胞画像の呼出しにおける助けとなり、あるいはオペレータまたは他の人員が後になって2面目の照合のためある細胞に照ることを許容する。この目的のため、スライド14が顕微鏡の設部51(第1図)の特定の場所

に固定された後、十字52の中心の如きスライド上のある位置あるいはランドマークが零のX-Y軸の基準点として定義される。この基準点は、XおよびY座標センサからの位置の読みのための翻訳テーブルの取定のため用いられる。XおよびY座標の距離に対するシステム制御部22の1対の場所のレジスタがこの時点で零にされ、その結果以降において全ての細胞位置が基準点からの特定のXおよびY座標のアドレスを持つことができる。顕微鏡の設部51の位置の調整手段により見出すための他の容易なランドマークは、その内部で基準となる細胞被検体40が見出されるブロックの境界線54の右下隅部53の如き隅部である。このブロックの境界線54はスライド上に印刷され、これはまた特殊な十字45以外の光学的強度校正のために用いることもできる。適当なロックを用いて、分類操作が開始するスライドおよび顕微鏡の設部のどれかの点を位置のレジスタに関する零のXおよびY座標の位置として取ることができる。XおよびY座標は、この場所において初めて零となり、次いでこの零の場所からの各画像視野の場所毎の読出しを行なう。

試料のスライド14はどんな大きさまたは形状のものでもよいが、研究室の技術者および病理学者の顕微鏡と共に用いられるガラスのスライドにおける習熟度の故に、支持台14は典型的に約75×25mm(3×1インチ)の大きさのガラス製の実際の顕微鏡用スライ

Dであることが望ましい。第4図に示したスライド14は、基準即ち制御用細胞被検体40がその内部に置かれる予め印刷された境界線54を有する。このスライドはまた、試料の細胞被検体のための領域81をも有する。

基準の細胞被検体は、本発明の実施例においては、既知の大きさや形状のリンパ芽球細胞およびDNA成分である。リンパ芽球細胞は、ある細胞が典型的な癌細胞である正常なDNA成分に対する2倍あるいは他の比率を有するが、ほとんど正常なDNA成分を有する種類である。基準の細胞被検体は、腫瘍の血球もしくは別の細胞の如き充分に染色された位中心部即ち核を有する他の種類の細胞でもよい。一方、細胞被検体40は、ある細胞の形状を有するスライド上に印刷された人工物でよい。更にまた、上記の如く、細胞被検体40は、スライドの試料領域81において用いられる単一分岐系の抗体の如き試料の細胞被検体と同時に処理される時、特定のある蛍光染料もしくは酵母の染料と反応する予め定めた大きさの従来周知のプラスチック玉でもよい。基準細胞被検体40はテスト毎に変わり、本発明は特定のテスト即ち細胞被検体40に限定されることはない。

病理学者は、基準細胞被検体40が予め取付けられた第4A図に示される如き前に調製されたスライドを用い、これに試料の細胞被検体12を加え、この被検体は

本例においては、スライド上の領域81における組織片（癌組織の如き）からの細胞であり、あるいは血球または他の細胞の癌組織のニードル吸引部あるいは単層の血球である。望ましいスライドは、基準の細胞被検体に特定する試薬の容器を内部に有するキットが設けられている。DNAの分析のためには、このキットは、フォイルグンのアジャ・ア試験液の容器および特定の定量的な染色DNA核に対する洗浄試薬液の容器を含む。

スライドを調製するためには、下記のプロセスが用いられる。スライド14は、1つの領域に正常な基準となる細胞と、別の領域における試料用細胞のための空間を有する。スライド14は、10%のホルマリン液中に10分間固定され、次いで領域81に対して通常のパラフィン埋置部分が調製される開放腔される。もし悪性腫瘍あるいは問題となる組織が恒久的領域に存在するならば、スライド14はこの部分の分析のために処理されることになる。

処理は、60分間5N塩酸液中におかれてDNA核の加水分解を行なうためのスライドの最初の処理からなる。次いでスライドは2時間の染色期間アジャ・ア染料の容器に送られる。その後、スライドは洗浄液中で洗浄され、エタノールで脱水され、ザイレン（Xylene）で清拭され、カバーを掛けて取付けられる。この時点で、スライドは恒久的に固定され、何時でも分析の用意

ができる。

DNA分析のためのシステムのソフトウェアは、この時、計器11を介して試料の細胞の光学的強度を知ることにより細胞のDNAの強度を決定することができる。一般に、染色された細胞の被検体の質量は微小分光光度法の技術において周知であるベア・ランバート法則を用いることによりその光学的強度から得ることができる。式によれば、

$$M = \frac{\alpha \sum OD}{E \lambda}$$

但し、Mはビログラム単位の被検体の質量

$\alpha$ は $\mu m^2$ 単位の点サイズ

E $\lambda$ は $\mu m^2$ /pr単位の被検体における染料の吸光係数

ODは各点の光学的強度（無次元）

本装置は、この法則を用いて多くの細胞または細胞被検体の質量分布を見出し、これを統計的手法、ヒストグラムまたは以下に論述する他の分析方式に従って分析することができる。スポット寸法 $\alpha$ は、カメラ18により測定されるビクセル数により決定される。各ビクセルの光学的強度は、光度、焦点の調整およびスライド上の校正領域からの基準光学的強度の読み取りにより校正される。この校正は、各ビクセル毎に測定された光量レベルを無次元量である光学的強度へ変換することを許容する。

吸光係数についての校正は、複数の基準細胞に対する光学的強度を測定して相対質量単位の分布のピーク値を決定することにより行なわれる。ピーク値のDNA量は基準の細胞分布量については既知であるため、測定領域内の細胞は、相対OD単位を用いて測定することができ、次いで基準の細胞校正値を用いることにより直接ビログラムに変換することができる。例えば、もし基準細胞が5.98pgのDNA（別の細胞）を含むことが知られ、また1つのグループの校正用細胞が相対OD値で11,000のピーク分布値を示すならば、正常のグループの人間の細胞（DNA量が既知の7.18pgを含む）は、適当な13,250なる相対OD値におけるその分布のピーク値を示すことになる。更に、他の相対OD単位の測定値が1グループの校正細胞から見出される吸光係数を決定してこれを用いることにより直接ビログラムに変換することができる。

DNA分析のためのシステムのソフトウェアは、いくつかの細胞または細胞の小集団における上記の測定を行なう際オペレータを助けるため、モニター82上の対話的な情報スクリーンを用いるメニュー駆動のプログラムである。第10図においては、モニター82上に現われるプログラムの視覚的なスクリーン構成が示されている。主スクリーン150は、本装置の校正および分析状態に関する情報を提示し、また一つの他の主情報スクリーンを収集するための選択リストを提示する。



主スクリーンの略図的事例が第11図に示されている。3つの主な情報スクリーンはプログラムの3つの任意の機能と対応し、この場合ラベル・スクリーン156がラベルの機能と対応し、1つの校正スクリーン152が校正機能（光学的強度および染色）と対応し、また分析スクリーン154が分析機能と対応している。各スクリーン152、154および156は、選択の1つが主スクリーン50への出口となる選択リスト即ちメニューを提示する。

更に、オペレータは分析スクリーン154から校正スクリーン152に入ること、あるいはその反対が可能である。他の2つのスクリーンは分析スクリーン154からの選択として使用でき、また調整境界スクリーン158による表示領域の境界の調整およびXおよびY座標スクリーン160により測定された領域のXおよびY座標の表示のため使用される。校正スクリーンの略図的表示が第12図に示されるが、分析スクリーンおよびXおよびY座標スクリーンの概略はそれぞれ第13図および第14図において示されている。

装置が作動中、病理学者は各スクリーン上のメニューから多くの選択即ち機能を有し、これからデータを取得してこのデータを処理する選択が可能である。一般に、プログラムは第11図に示される主スクリーンから起動されるメニューであり、これが第15図に示される如き選択の主要なメニューを提供する。主メニューA10は、

校正機能の選択は、モニター82上の表示を主スクリーンから第12図に示される校正スクリーンへの変更を行なうことになる。選択が第12図に示される校正スクリーンは、基準細胞における光学的強度および染色要因に対する装置の校正の実施のため必要なものである。装置11の校正は、新しいスライドが光量および染色要因を正規化するため選択される度にに行なわれることになる。

分析機能の選択は、モニター82における主スクリーンから第13図に示される如き分析スクリーンへの表示の切換えを行なうことになる。分析スクリーンは、試料の測定についてのデータの取得およびDNAの測定を行なうため必要な機能に対するメニューを含む。これらの機能は、第17図において更に詳細に示されている。分析機能を選択するためには3つの基準が満たされねばならない。第1に、校正スクリーンにおける光量設定機能は少なくとも一回で満足に行なわれねばならない。光量設定機能は、その時の画像が表示されておらずまた光量が129と131の間にある時に成功する。第2に、校正の基準細胞カウントを50と512の間になければならない。最後に、DNA変換数は1.0以上かつ99.99以下でなければならぬ。

ユーザが主スクリーンからプログラムの操作を終了することを許容する。エスケープ・キーを押すことは、

ラベル機能A12、校正機能A14、分析機能A16、ヘルプ機能A18および出口機能A20を含む5つの主スクリーン機能からなっている。

ラベル機能は、ユーザが患者の識別、接点番号およびDNA変換数に関する情報を入れることを許容する。DNA変換数は、第1と第2のピーク量が第1と第2のピーク指数を得るため除される（第11図）数である。最初に、この数を正常な人間の細胞における標準的な細胞当たり7.18ピコグラムにセットされる。しかし、本装置は、人間でない細胞の測定のため使用することもでき、指数は所要のものに変更することもできる。DNA指数は、1.0以上、また99.99以下となるようにしなければならない。もし変換数がこの範囲内になければ、ユーザは主スクリーンまたは校正スクリーンのいずれにおいても分析の選択を行なうことが許されない。

ラベル機能の間に入れられる3行の情報が、XおよびY座標スクリーンを除く各スクリーン上に現われる。ラベル操作は、入力もしくはエスケープ・キーのいずれかを押すことにより行なわれる。入力キーを押すと、3行の情報に対して行なわれるどんな変更でも保管する。エスケープ・キーを押すと、3行に対して行なわれたどんな変更も無視する。ラベル機能の間に格納された情報は、プログラムが終了される時は保管されない。

出口機能の選択と同じである。出口の選択もしくはエスケープの指定のいずれかにより出口操作が指定されると、ユーザは自分の指令の終了を確認することを求められる。確認を受入れるためには、ユーザはy o oのキーを選択する。確認を拒否するためには、ユーザはn oのキーを選択するかあるいはエスケープ・キーを押す。

校正メニューの選択は第16図に示されている。校正メニューの選択は、光量設定機能A24、XおよびY軸設定機能A26、合焦機能A32、測定機能A36、XおよびY座標機能A38、分析機能A28、クリア機能A30、ヘルプ機能A34、および主スクリーンへの出口即ち戻り機能A40を含む。

光量設定機能A24は、その時の画像に対する背景光量を計算する。光量は、これが標準化された範囲内になるまで調整することができる。光量設定機能は、分析、合焦および測定機能を選択する前に少なくとも一回で行なわれなければならない。最も正確な結果のためには、光レベルは正確に130に等しくなければならない。光量値は、指示「光レベル」により校正スクリーン上に表示される。もし光レベルが良好に設定されるならば、画像のノイズの排除が測定プログラムにおいて生じることになる。

光源の校正は、第22図において「光の強さの分布」として全体的に示された形態でよいグレー・スケール

のヒストグラムの更新を行なうことにより顕微鏡の合焦を助けることを含む多くの結果を達成する。図示したヒストグラムは、入射光1、および透過光1、のグレー・レベル値を有する透過光とグレー・レベル値を有する入射光との比較を示している。オペレータは、プラットフォーム51を動かしてモニター38上の光校正用十字52を視認する。オペレータは、光校正材45を視認し、システムはこの領域の要素からの光を入力することにより前記パターン1のヒストグラムを計算する。オペレータはその時、光源17の光レベルを調整してスクリーン上の光レベルの読みを変更する。オペレータは、これを、適正な読みがスクリーン上に現われるまで、露光の選択と光源17の調整を交互にすることにより行なう。透過光および入射光について所要のグレー・レベルである背景の光の強さが130になるように光源が左右のピーク値1、および1、を生じるように調整された時、システムは校正状態となる。本装置11のシステムのソフトウェアが値1、と1、を用いて光学的濃度に対する内部の校正テーブルを設定し、その結果分析されつつある画像の相対性における特定の光学的濃度を持つように各画素に対して検出される光の強さがこのテーブルおよび既知の値と照合される。

デジタル画像形成手段において周知の如く、暗い被検体に対する実際の光学的濃度は基準値として白(1、)を使用して知られる。光学的濃度について手段

通知する。この機能が成功しなかったならばこれに反応して、オペレータは早にメニューからXおよびY座標選択操作を再び選択して機能を再び試みるのみである。

測定機能A38は、染色要因を正規化するための基準細胞または基準細胞被検体の校正を行なうため用いられる。測定機能が選択されると、カメラの画像化機能が作止し、校正スクリーン上のカーソル170が第12図の指示「測定操作」まで移動する。カーソル170がこの場所にある時は、ユーザはロック状態の番号を付与することにより測定操作を指定することができる。マゼンタ色のブロックの如き識別子が識別された細胞被検体の周囲に置かれる。第18図に示される多数のキー操作を用いて、オペレータは以下本文に更に詳細に説明される対話的な選択および否定プロセスを行なうことができる。

基準の細胞校正操作の間、オペレータは、基準細胞被検体48を監視スクリーン37上の視野に移動させるため従来のXおよびY座標つまみ11および17(第1図)を回すことにより、顕微鏡の駆動を移動させる。個々の細胞被検体48がブロック即ち識別境界線78内に入ると、オペレータはこの基準細胞被検体に対する和の光学的濃度の測定値を入力するためキーボード36上のキーを押す。適当数の基準細胞被検体が分析された後、オペレータは、相対量のDNAを含む如き基準細胞被検体

を校正することにより、入射する画像データは、出力される光学的濃度が本例においては試料の被検体におけるDNA量を正比例的に反映するよう直線的に加算することができるように、画像処理ボード21における索引テーブルにより変換することができる。

XおよびY座標の設定機能A28は、スライドのXおよびY座標系に対する原点の設定を行なう。この機能は、ソフトウェアにおける1対の場所のレジスタを零化することにより、その時の画像即ち視野の場所を原点として設定する。一般に、顕微鏡のプラットフォーム51は、十字マーク52の如き容易に認識されるランドマークが見えるまで移動させられる。次いでこのランドマークは、座標系を再び零化して前に測定された領域を再び見出す手段を提供するため用いられる。XおよびY座標設定機能は、新しいスライドが選択される毎に用いられる。もしXおよびY座標選択機能が実行されなかったならば、校正および分析スクリーンのXおよびY座標機能およびXおよびY座標スクリーンにおける諸機能は適正に働かない。XおよびY座標設定機能は、校正基準細胞のカウントが零に等しい時にのみ用いることができる。XおよびY座標設定操作が実行中にもし顕微鏡のプラットフォーム51が移動されるならば、座標の原点は誤りとなる。このプログラムは、スクリーン上にメッセージを出してXおよびY座標設定操作が成功した時オペレータに

の倍散性分布をオペレータに示すビデオ・モニター12上の第12図に示される如きヒストグラムが提供されることになる。システム制御部21の内部では、基準細胞被検体について実際の測定された和の相対光学的濃度値が基準細胞が持つことが知られるある予め定めた標準的な即ちDNAの基準量と比較される。本例においては、もし基準細胞が細胞当たり5.85ピコグラムのDNAを含むならば、時々8700相対OD単位の光学的濃度の測定値が前記質量と対応する。オペレータにより見出された実際の和の光学的濃度は格納された基準DNA値に分割されて、完全な染色状態からの染料における濃度に対する吸光係数を調整する因数を提供する。

XおよびY座標機能A28は、選択されると、モニター37上にその時の画像即ち領域のXおよびY座標を校正スクリーンにおいて表示する。この座標は、ユーザがキー(CTRL、ALTまたはSHFTを除く)を押すまで連続的に表示される。このため、もしスライド14に対する同じ原点が設定されるならば、オペレータは、プラットフォーム51を位置決めして座標の変更を注視することにより、前に記録された同じ画像を見出すことができる。XおよびY座標設定機能A28は、XおよびY座標機能が選択されるために前に成功裡に行なわれていなければならない。

クリア機能A30は、全ての格納されたデータ画像

のページを生じることになる。クリア機能が選択された後、ユーザはこの操作を確認するように要求される。この確認を受入れるためユーザは「y」のキーを選択するか、あるいは確認を否定するためユーザは「n」のキーを選択するか、もしくは「ESC」のキーを押す。

合焦機能 A 12 は、ユーザが画像のより正確な合焦を行なうことができるように画像に対してカラーの強調を行なう。システム制御部 22 は、画像におけるグレー・レベルの強調に対して異なるカラーを自動的に提供する。次いで、オペレータは、例えばブロックの縁部に合焦されつつある被検体が明瞭なカラーの境界を示すまで、調節部 15 の合焦手段を調整する。このことは、2つの別のレベルあるいは縁部のグレー・スケールが合焦状態にあることの表示である。これは、2つのグレー・レベルが相互に近い故にカラーがなければ更に難しく、またカラーを強化しなければ見分け難い。光量設定機能 A 24 は、合焦機能の選択のため少なくとも一回は成功裡に行なわれていなければならない。画像をその下のカラーに復元するためには、合焦機能は二回目に選択される。ユーザが測定機能を選択する時カラーが強化された画像が存在するならば、画像は自動的にその元のカラーに戻される。分析機能 A 28 を選択すると、表示を校正スクリーンから分析スクリーンへ変更する。分析スクリーンは、細胞物質における

DNA の測定を行なうための必要な第 18 図に示される機能のメニューを提示する。分析された機能を選択するためには 3 つの基準が満たされなければならない。第 1 に、校正スクリーンにおける光量設定機能は少なくとも一回成功裡に行なわれていなければならない。第 2 に、校正の基準細胞のカウントは 50 と 512 の間になければならず、最終的に DNA 換算率は 1.0 以上および 99.99 以下でなければならない。校正メニューにおける分析機能は、主スクリーンにおける分析機能と同じように機能する。

分析メニューにおける分析機能の選択については、第 18 図に更に詳細に示されている。この分析メニューは、分類機能 A 44、合焦機能 A 46、光量検査機能 A 48、2 回目選択機能 A 50、領域 1-2 機能 A 52、スケール機能 A 54、X および Y 座標表示機能 A 56、境界機能 A 58、X および Y 座標クリア機能 A 60、ヘルプ機能 A 62、レポート機能 A 64 および主メニュー戻し機能 A 66 の選択を許容する。

光量検査機能 A 48 は、その時の画像の光レベルの計算を行なう。この光レベル値は、第 12 図における指示「光レベル」により分析スクリーン上に表示される。

2 回目選択機能 A 50 は、ユーザが分析スクリーン上に表示されたヒストグラム上の 2 番目のピークを選択することを許容する。2 番目のピークの質量、DNA

指数および領域は、指示「2 番目のピーク」の下にスクリーン上に表示される。2 回目選択機能は、表示された細胞カウントが零に等しい時は選択することができない。表示された細胞カウントは指示「表示」によって表示される。2 回目選択機能が選択された後、カーソルは 1 組の矢印まで移動し、ヒストグラム上のその時の 2 番目ピーク位置が黄色で強調される。開放に、最も右のヒストグラム・データ位置が 2 番目のピークとして選択される。左の矢印を選択すると、2 番目ピーク位置を左へ移動させ、ユーザは 2 番目のピーク位置を右へ移動させるには右の矢印を選択する。矢印が選択される毎に、スクリーン上のその時のピーク・データが更新されることになる。

ヒストグラムの水平線の下には、3 つの記号の 1 つが 2 番目のピーク位置の下方に現われる。記号「より小さい」は、2 番目のピークが 1 の領域に存在するならば現われる。記号「より大きい」は、2 番目のピークが領域 2 に存在するならば現われる。上向きの矢印記号は、2 番目のピークが領域 1 または領域 2 のいずれにも存在しなければ現われる。この 3 つの記号の理由は、2 番目のピーク位置が 2 回目選択操作が終了した後識別できるようにするためである。領域の黄色の線は、2 回目選択機能が終了すると消滅する。ユーザは、2 回目の操作を終了するため「ESC」キーを押す。この 2 番目のピークのデータもまた、以下の

分析スクリーン機能の 1 つが選択されると自動的に消滅する。即ち、クリア、レポート、スケール、または主スクリーンである。

分類機能 A 44 は、ユーザがその時の画像における細胞即ち被検体を分類することを許容する。分類機能が選択された後、ユーザはこの操作を確認することを求められる。確認を受入れるためにユーザは「y」のキーを選択し、また各員を否定するためにはユーザは「n」のキーを選択するかあるいは「ESC」キーを押す。もし分類が確認されると、カメラ情報取得機能は停止し、カーソルは指示「分類操作」により移動する。カーソルがこの位置にある時は、ユーザは分類操作を指定することができる。ロック数値が付与され、これがこれら機能を使用可能にする。質量機能の場合と同様に、マゼンタ色のブロックがその時の細胞の周囲に置かれ、操作はユーザがこの細胞識別子を画像を通過して内部の細胞を識別して分類することを許容する。

X および Y 座標表示機能 A 56 は、表示を分析スクリーンから X および Y 座標スクリーン（第 14 図）へ変更する。X および Y 座標スクリーンは、分類され格納される間数の 512 の画像の X および Y 座標を表示する。また、このスクリーンは、座標による画像領域の分類を可能にする機能を保有する。校正スクリーンにおける X および Y 座標の設定は、X および Y 座標

表示機能が選択される前に成功裡に行なわれなければならない。

XおよびY座標スクリーンはいくつかの機能を有する。その機能の1つは、その時のXおよびY座標位置からの距離に従ってXおよびY座標の「最も近い」分類を行なう。X座標機能は、X座標の値に従ってXおよびY座標の分類を行なう。同じ値があると、Y座標の値は分類順を決定する。同様に、Y座標機能はY座標値に従ってXおよびY座標の分類を行なう。同じ値があれば、X座標値が分類順を決定する。「領域#」機能は、座標の領域番号に従ってXおよびY座標の分類を行なう。領域番号は、領域が分類された順序である。

ページアップ機能は、ユーザがXおよびY座標の前のページ（もしあれば）を表示することを許可し、またページダウン機能は、ユーザがXおよびY座標の次のページ（もしあれば）を表示することを許可する。出口機能は、表示をXおよびY座標スクリーンから分析スクリーンへ切り換える。エスケープ・キーを押すことは、出口機能の選択と同じことである。

XおよびY座標の選択は、その時の領域のXおよびY座標を表示する。この座標は、ユーザがキー（CTRL、ALTおよびシフトを除く）を押すまで連続的に表示される。校正スクリーンにおける

XおよびY座標設定機能は、XおよびY座標機能が選択される前に成功裡に行なわれなければならない。XおよびY座標スクリーンにけるXおよびY座標機能は、校正スクリーンおよび分析スクリーンにおけるXおよびY座標と同じように機能する。

クリア機能A80は、全ての関連したデータ領域をクリアする。このクリア機能が選択された後、ユーザはクリア操作の確認を求められる。この確認を受入れるためにユーザはy o oのキーを選択し、あるいは確認を否定するためにユーザはn oのキーを選択するかあるいはESCキーを押す。

合焦機能A48は、ユーザが画像の更に正確な合焦を行なうことができるように画像に対してカラーの強調を行なう。分析スクリーンにおける合焦機能は、前に述べた校正スクリーンにおける合焦機能と同じように機能する。

領域1-2機能A52は、ユーザが分析スクリーンに表示されたヒストグラムにおける2つの領域を指定することを許可する。この機能の目的は、ヒストグラムにおけるある領域の細胞カウントを識別することにある。領域1-2機能は、示された細胞カウントが零に等しい時は選択することができない。細胞カウントは、スクリーンの右下部分において表示される。領域1-2が選択された後、カーソルはヒストグラムの水平軸より下方にある数字列まで移動する。この数字列は、

ユーザが領域1と領域2の場合を指定することを許可する。ユーザは、その時のヒストグラムの位置が領域1に帰属することを指定するため「1」をタイプする。ユーザは、その位置が領域2に帰属することを指定するためには「2」をタイプする。ユーザは、その時のヒストグラム位置が領域1および領域2のいずれにも帰属しないことを指定するためには「0」をタイプする。ユーザは、領域2なしに領域1を指定することを許可されるが、領域1なしに領域2を指定することはできない。両方の領域が指定される時は、領域1は領域2の左側に指定されなければならない。この領域は連続するように指定されなければならない。領域1-2機能から出るためには、ユーザは入力キーまたはESCキーを押す。もしユーザが入力キーを押すと、ヒストグラムの領域1が緑で強調され、領域2はマゼンタで強調される。この領域の細胞カウントもまた表示される。ESCキーを押すと、行なわれたどんな変更もプログラムをして無視させる。領域1および領域2のデータは、以下の機能の1つが選択される時自動的にクリアされる。即ち、分類、クリア、レポート、スケール、または主機能である。

分析機能A44については、第20図および第21図に関して更に詳細に記述する。オペレータは、分析のためスライドの試料領域における多数の領域位置380、381、382を選択することになる。オペレータは、顕微鏡の

段階51に対するXおよびYのつまみ11、17を回してモニターのスクリーン37上の視野内にDNA座ならびに必要に応じて細胞の形態について分析されるべき試料の細胞被検体の第1の部分を選択させる（第20図）。プログラムは、例えば300で示されるブロックをモニター37上に表示されつつある特定の試料の細胞被検体12上に置き、次いでオペレータは試料の細胞被検体、即ち染色された細胞の核についての和の光学的強度、ならびにその面積、その円度および他の分類上の情報を与えるため米国特許第4,553,266号に開示されるものと同じ方法で細胞を分類するため、試料被検体のピクセル（画素）の走査を行なうキーを使用する。また、オペレータは、キーボード38上に手で操作されるいくつかの細胞分類キーを有し、オペレータはタイプ0の正常な細胞、タイプ1の癌細胞、タイプ2の癌細胞、タイプ3の癌細胞等の如き周知のカテゴリのキーの1つを押す。ビデオ・モニター82上には、分析ヒストグラムが領域内の細胞のDNA量を示している。オペレータは、各視野即ち領域内の細胞の数を選択し、次いで顕微鏡の段階を移動して試料の細胞の多くの異なる領域を視野内に位置決めし、オペレータが典型的なサンプルについて充分な細胞を得たと感じるまで、これらの試料の多くの細胞を取出して分析する。

図示の如きヒストグラムは、この時、特定のDNA量

の細胞位を示し、かつ第13図に示される如き基準ピーク値の各々に対するDNA量の平均値を示すビデオ・モニター82上に表示されることになる。キーボード36上の印刷キーを押すことにより、オペレータはプリンタ38において第13図に示され他ヒストグラムを印刷することができる。試料の細胞についてのデータもまた、後で呼出するため、また患者の症状の進行または後退に関する分析のため同じ患者からの新しい試料のデータと比較するため、システム制御部22内部に格納される。

分析機能の操作については、第18図および第20図に関して更に詳細に記述するが、本装置に前に格納された視覚的な領域が示される。この領域は、DNA量について分類され測定されるべき多くの細胞被検体を保有する。プログラムが最初にこの操作モードに入る時、この領域における最初の対象は、1つの細胞被検体が認識されるまでラスタ走査的な方法において領域のピクセルを走査することにより識別される。一旦1つの細胞被検体が認識されると、ブロック300の如き識別手段が被検体の周囲に引出される。これは、オペレータがどの細胞被検体がその時測定中であるかを判定するための視覚的な識別子を提供する。測定に加えて、オペレータは分析メニュー中に多くの選択を有する。オペレータが行なう主な選択は、ブロックA201におけるこの時の被検体の分類である。オペレー

タはこれを数字キー0から5の1つを押すことにより行ない、このキーは自動的に識別ブロック300の細胞被検体を選択された分類0～5に置く。もし識別された細胞が異常であり異常な細胞でないか、あるいは識別し得る細胞被検体40でなければ、オペレータはブロックA204で示されるようにキーボード上の9を選択することによりこの時の被検体を排除することができる。

ブロック300における被検体の分類または排除の後、オペレータはブロックA208で決定される如く、識別ブロックを次の測定されていない被検体へ移動させることができる。オペレータは、これをキーC T R L / F 2を押すことにより行ない、この操作はプログラムをしてブロック300を消去させ次の識別し得る細胞被検体を探索させる。この細胞被検体が見出されると、分析識別できるなブロック302がその周囲に引出されて、オペレータに対してこの機能が行なわれることを表示する。このように、このプロセスを反復することにより全グループの細胞被検体を分類し、測定し、あるいは排除することができる。第20図は、ある細胞被検体についての走査、その周囲における識別ブロックの設定、および被検体の分類または排除の操作を示している。このように、プログラムは被検体300から302、304、306、308、310、312等への分析手順を経由する。

更に、分類すべき細胞被検体の1つがオペレータが考えていたものと異なり前の分類の1つに入れることができないか、あるいはある他の理由のためオペレータが誤って前の被検体を分類したと考えるならば、ブロックA206において、C T R L / F 1を押すことによりオペレータは識別ブロックを再び前に測定された被検体へ戻すことができる。分析中の特定の領域における全ての細胞被検体を識別した後、オペレータは特定の分析のための更に別の細胞を提供するためXおよびY座標位置決め機構を操作することにより、別の領域への移動の選択を打する。

オペレータが充分な細胞被検体が分析されたと判断した時は、オペレータは入力キーまたはエスケープ・キーのいずれかを押すことにより分析機能を終了することもできる。ブロックA212に示されるように、オペレータが入力キーを押すことにより分析機能を終了するならば、各測定毎に組立てられたデータは保管されることになる。しかし、もし分析機能がE S Cキーを押すことにより終了されるならば、ブロックA216においてデータは保管されることはない。

レポート機能A54は、ユーザがどの細胞の分類がモニター82のスクリーン上に示されるヒストグラムに含まれるかを指示することを許容する。レポート機能が選択された後、カーソルはオペレータが細胞の種類

を指定することを許す選択リストへ移動することができる。下記のテーブルは、特定の細胞の種類を選択するためオペレータがどのキーを押したかを示す。

細胞の種類	キー
正常な細胞	0またはn
1	1
2	2
3	3
4	4
リンパ球	5またはL

レポートのデータに対してはどんな種類の組合せでも許容される。プログラムは、テーブルにリストされたもの以外の文字は無視する。オペレータは、入力キーまたはエスケープ・キーを押すことによりレポート操作を終了する。オペレータが入力キーを押すならば、オペレータはヒストグラム中の種類を指定されたものへ変更する。しかし、もしエスケープ・キーが選択されると、プログラムは行なわれたどんな変更も無視し、正常な状態に戻る。領域1および領域2、および第2のピーク・データの機能は、レポート操作が行なわれる時自動的にクリアされることになる。

スケール機能A54は、オペレータが分析スクリーン上に提示されたヒストグラムの水平軸のスケールを変更することを許容する。0～16、0～32および0～64

から選択する3つのスケールがある。その時のスケールが0~18の時このスケール機能が選択されると、新しいスケールは0~32となる。その時のスケールが0~32である時スケール機能が選択されると、新しいスケールは0~64となる。同様に、その時のスケールが0~64の時スケール機能が選択されると、新しいスケールは0~128となる。この機能においては、領域1、領域2および2番目のピーク・データは、スケール操作が行なわれる時自動的にクリアされることになる。

境界機能A58は、モニター27上の表示を分析スクリーンから調整境界スクリーンへ切替える。この調整境界スクリーンは、細胞の境界即ち閾値を変更するため必要な諸機能を含む。境界スクリーンをアドレス指定する間、カメラの画像獲得は停止される。

スタンプ機能は、矢印キーの1つが選択される時、オペレータが境界が変化する量を変更することを許容する。スタンプのサイズが選択された後、カーソルはユーザが新しいスタンプのサイズの値にタイプすることができるスクリーン上の場所へ移動する。このスタンプ・サイズ機能を終了するには、入力キーまたはエスケープ・キーが用いられる。入力キーを押すと、スタンプ・サイズの変更を保存するが、入力キーが押されると行なわれたどんな変更も無視する。最初、スタンプ・サイズの値は1に等しい。

なければ、プログラムは再びブロックA308へループし、ここで画像領域内の全てのピクセルがテストされるまで走査が継続される。全てのピクセルがテストされた後、走査パラメータがブロックA308においてリセット、細胞被検体列をブロックA310において更新することができる。

画像のあるピクセルが閾値より大きいと判定される時、プログラムがブロックA308において被検体にラベル表示する。ラベルの表示動作については、次に更に詳細記述する。デジタル化画像における個別の細胞被検体は、閾値より上のピクセルを見出すためデジタル化された画像についてラスタ走査が行なわれる情景分析手法により見出される。この手法は、隣接するピクセルの4回の近傍分析を行ない、細胞被検体の全領域が定義されるまで、閾値より大きな「近傍中の近傍」を帰納法で探し続ける。この手法は、閉鎖のある画像から見出される局所的な境界の如き他の情景分析法において選好されるが、これは細胞特に不規則であるかあるいは針状の突起を有する如き細胞の真の領域を見分ける際に安全であるためである。

隣接する最初に見出されたピクセルの周囲の4つのピクセル（頂部、底部、右側および左側）が順次調べられて、閾値より高い光学的濃度即ちグレー・レベルを有する次のピクセルを識別する。例えば、もし第1

上向き矢印機能はスタンプのサイズの値だけ細胞の境界を増大し、またダウン領域機能はスタンプのサイズの値だけ細胞の境界を縮小する。出口機能は表示をアドレス境界スクリーンから分析スクリーンへ切替える。エスケープ・キーを押すことは、出口機能を選択することと同じである。

一般に、校正用細胞被検体および試料用細胞被検体の両方に対する特定のパラメータの収集のため、対話的なデータ収集および分析の方式が本装置により用いられる。選択される各領域がモニター27上に表示され、校正スクリーンの測定操作あるいは分析スクリーンの分類操作が選択される。

校正キーの操作および分析キーの操作（第18図および第19図）のための対話的操作を行なうサブルーチンのソフトウェア・フロー・チャートが第24図に示されている。オペレータが測定操作または分類操作のいずれかを選択する時、このプログラムが呼出されて校正用細胞被検体と試料用細胞被検体の双方に対する選択プロセスを提供する。このプログラムは、閾値よりも大きなピクセルを見出すまで、格納された画像のピクセル単位のラスタ走査を行なうことによりブロックA300において始動する。この操作のためのテストはブロックA302において行なわれる。もし閾値よりも大きなピクセルが見出されなければ、ブロックA304で走査が完了したかどうかを判定する。もしそうで

なければ、このピクセルの状に見出されたピクセルが閾値の上になければ、これはラベル付けルーチンから排除される。時計回りの次のピクセル（右側）が次に調べられ、閾値より大きいかも知れない。もしそうであれば、このピクセルが識別されてこれを細胞の領域の一部としてメモリーに格納される。次に、見出されたピクセルのアドレスおよび濃度がッシュダウン・リストに格納され、このピクセルの4つの近傍ピクセルが同じ時計方向の順序で調べられる。これは、特定のピクセルについて閾値より大きな近傍ピクセルが見出されなくなるまで帰納法で継続する。この時、ッシュダウン・リストにおける前のピクセルが再び調べられ、1つの領域即ち細胞被検体を構成する全数のピクセルが識別されるまで、近傍の探索プロセスを継続する。このため、領域の閾値より大きな各ピクセルが識別され、1つの細胞について完全に閉鎖された領域が画成される。

一旦1つの細胞被検体にラベルが付されると、1つの細胞被検体テーブル（第24C図）が図示の如き被検体について設定される。このテーブルは、そのピクセル全体のアドレス、被検体におけるピクセル数、被検体の最小および最大点に対するXおよびY座標点、被検体の周囲におけるピクセルのカウント数、被検体のピクセルの光学的濃度の和、被検体に対して行なわれる分類、および被検体が帰属する領域のX

およびY座標を含む。複数の細胞被検体テーブルは、領域アレイと呼ばれて第24A図に示される一時アレイを含み、これは問題となるその時の領域の画像について生成された対話的データを格納するため使用される。

ブロックA312においては、プログラムが自動フラグが前に設定されたかどうかを判定する。もしそうならば、プログラムが直ちにブロックA318へ分岐し、またもしそうでなければ、ブロックA314へは分岐しない。次に、ブロックA313においては、ブロック即ち識別の境界がXおよびYの限度の周囲に置かれる。このモードは、オペレータに対する領域におけるある特定の被検体を識別する。ブロックA314においては、キー・ハンドラが入力されて、第18図または第19図のキーの最端のどれが行なわれるべきかを判定するため、オペレータによるキーの投入を得る。このキー・ハンドラは更に、校正と分析のどちらの操作が行なわれるかを判定し、その時のモードと関連するキーのみが使用可能に置かれ、他の全てはロック状態に置かれる。一旦あるキーが得られると、ブロックA328～A342がどの機能が選択されたかおよびルーチンの進行状態を判定する。

ブロックA328に示される如きキー0～5は、校正用被検体あるいは試料用被検体の分類の受入れを行なう。もしこのようなキーが検出されるならば、肯定

分岐がブロック318においてプログラムを継続する。ブロックA318においては被検体にラベルが付され、ブロックA320においては被検体が(赤で)染色されて受入れられたかあるいは分類された旨をオペレータに対して表示する。オペレータは、形態等の視覚的な手掛りに基いてこの細胞被検体を異なるカテゴリに分類する。分析のための細胞は、正常な組0またはいくつかの異常な組1～5の1つに分類することができる。被検体のデータの組はブロックA318における関連する被検体のデータ・テーブルのその場所に格納される。校正用の被検体はタイプ0即ち正常なものとして分類される。次いでプログラムはブロックA300へ戻り、ここで画像走査レジスタが増分されて次の被検体に対する領域を走査する。

あるいはまた、もし打鍵がブロックA328においてテストされた如く5であったならば、このことは校正用細胞被検体が排除されたか、あるいはその時の試料用の細胞被検体が排除されたことを意味する。このため、ブロックA322においては、排除された細胞被検体が受入れられたかあるいは分類された細胞被検体とは異なる色(白)で染色され、プログラムはブロックA300の走査ルーチンの入口へ戻って分析被検体を探す。細胞被検体の染色は、オペレータに対して被検体がこの領域で分析され、被検体の分析色の染色がこの被検体を受入れられたか分類された細胞

被検体と識別することを警告する。

しかし、もし打鍵がブロックA338においてテストされた如きCTRL/F1であるならば、オペレータは識別ブロックを最後の前に測定した被検体へ移動することを欲する。プログラムはこの時ブロックA346において最後の被検体のポインタを探すことを領域アレイに照会する。このポインタは、ブロックA314において別の打鍵を得る前に、制御をブロックA313へ移すことにより、前の細胞被検体の周囲にブロックを形成するため用いられる。一連のCTRL/F1を用いて、オペレータは選択的に識別ブロックを前に測定した細胞被検体から前に測定した細胞被検体へ逆方向に移すことができる。もしこのブロックがある特定の細胞被検体の周囲に置かれた後オペレータがこの細胞被検体を用び分類することを欲するならば、オペレータはブロックA328においてキー0～5でこれを分類する選択を有する。

識別ブロックは、キーCTRL/F2を選択することにより次に未測定の細胞被検体へ移すことができる。このキーはブロックA338においてテストされ、もし見出されたならば、直ちにプログラムの制御をブロックA300における画像走査入力へ戻す。この操作の効果は、その時の細胞被検体を排除するかあるいは受入れることなく、オペレータがその時の細胞被検体を飛越して識別ブロックを次の細胞被検体へ

移動することを許すことにある。一連のCTRL/F2の打鍵は、細胞被検体を測定せずにブロックを細胞被検体を通して前方に移動させることになる。

もしある特定の領域における細胞被検体の全てが試料用の細胞として正常に見え、あるいは通常基準細胞の場合におけるように受入れられるならば、オペレータはこれら細胞を全て自動的に分類することを欲しよう。これを行なうためには、オペレータはキーCTRL/F3を押す。この打鍵はブロックA339により検出され、制御をブロックA341へ転送し、ここで自動モード・フラグがセットされる。このプログラムは次にブロックA300において画像走査の入力へ戻る。しかし、ブロックを次の被検体の周囲に置く通常のシーケンスを経過して打鍵を待機する代わりに、このプログラムはある領域の細胞の残部を自動的に分類するようループする。セットされるこの自動モードのフラグがブロックA313において検出され、プログラムが制御を自動的にブロックA318へ移す。自動的に分類された細胞は正常な即ちタイプ0として類別される。このため、走査およびラベル付けのループは、領域全体の走査がブロックA304において検出される如く完了されるまで、ブロックA300、A302、A308、A313、A318、A318およびA320を介して実行されることになる。

オペレータが選択できる分析の選択は、キーCTRL

／F4を打鍵することにより入力される細胞診断機能である。このキーはブロックA341において検出され、ブロックA352において制御を細胞診断機能の操作へ移す。CTRLキーおよびF4キーが押される時、ユーザは細胞診断モードに入る。このモードにおいてはユーザは識別ブロック内に診断線を作ることが許される。オペレータは、固定された細胞または排除される細胞に帰属するピクセル上に診断線を入れることはできない。測定された細胞は、タイプ0、1、2、3、4または5として分類された細胞である。固定数字は選択の診断操作を行なうための付勢されねばならない。十字のヘア・ラインは診断が行なわれる場所に配置される。以下のテーブルは、実施可能な細胞診断操作プラス所要の操作を選択するため押されねばならない。キーをリストする。この機能は、2つの領域間の周囲に人工的に診断を行なうことにより細胞と重合する分割を可能にする。このため、ラベル付けルーチンは1つの細胞被検体として1つの領域にラベル付けするに過ぎない。

キ	作
0	分割の投入および停止
1	1ステップ左下へ移動
2	1ステップ下へ移動
3	1ステップ右下へ移動
4	1ステップ左へ移動

被検体選択モードに入る。

CTRLおよびF5キーが押されると、ユーザは選択モードに入る。固定数字は選択操作を行なうために付勢されねばならない。十字ヘア・ラインはその時の選択地点に見られる。以下のテーブルは、実施可能な選択操作、プラス所要の操作を選択するため押されねばならないキーをリストしている。

キ	作
0	十字ヘア・ラインの運動のステップ・サイズ[5または15]の選択
1	1ステップ左下へ移動
2	1ステップ下へ移動
3	1ステップ右下へ移動
4	1ステップ左へ移動
5	画像の中心へ移動
6	1ステップ右へ移動
7	1ステップ左上へ移動
8	1ステップ上へ移動
9	1ステップ右上へ移動

ESC 出口選択モード

選択モードの終了キーを押されると、ブロックは選択点の後の最初の未測定細胞へ移動する。もし十字ヘア・ラインの後に細胞が存在しなければ、ブロックは次の未分類の細胞へ行く。

5	ブロックの中心へ移動
6	1ステップ右へ移動
7	1ステップ左上へ移動
8	1ステップ上へ移動
9	1ステップ右上へ移動
入力	最後のステップの再実行(100ピクセルまで)

ESC 細胞診断モードの終了

1ステップは3ピクセルである。新たな診断を始める時、最初のピクセルは診断されない。操作5においては、もし中心のピクセルが測定または排除された細胞に帰属するならば、十字ヘア・ラインは移動しない。

ブロックA352において細胞の診断が行なわれた後、走査レジスタが特定の被検体の診断入力点へセットされる。プログラムはその時ブロックA300における走査入力へ戻る。細胞被検体が同じ入力点を有するも異なる周囲を有するため、ラベル付けルーチン(ブロックA308)は診断された時に細胞被検体にラベル付けを行なう。

オペレータが有する別の選択は、1つの領域内の被検体の選択が可能であることである。このモードの選択は、ブロックA340において検出されるCTRL／F5キーの打鍵により行なわれる。ブロックA340からの食定の分岐は制御をブロックA348へ転送し、ここで

被検体が上記の手法により選択された後、ブロックA348において走査レジスタが前記の特定の被検体の入力点にセットされ、ブロックA300においてプログラムが走査入力点まで戻る。このため、被検体の周囲の識別ブロックをそのXおよびY座標の限度値を用いて形成し、オペレータに次に別のキーを押して前記の選択された被検体について他の測定および分類を行なう選択を与える。

別の機能が、ブロックA330においてテストされるCTRL／F6キーにより与えられる。この特徴は、オペレータに対して、ブロックA314において指定された次の細胞被検体を送り、次いでブロックA313においてブロックの周囲に選択された被検体を引出すことにより、識別ブロックを前進させる能力を与える。CTRL／F2キーはこれにより、オペレータが前に測定された細胞のポイントを介してそれぞれ前後に動かすことにより前の細胞分類を迅速に修正することを許容する。

ブロックA332において入力キーが検出されると、プログラムの制御はブロックA310へ送られる。このブロックにおいて、細胞被検体列(第24B図)がその時の領域アレイにより更新されて領域における特定の被検体について収集された全データを格納する。あるいはまた、エスケープ・キーの検出がプログラムをこれが呼出されたソフトウェアの所定位置に即時戻



す。

図示されたシステム制御部22が細胞の分類および光学的強度の分析を行なうようにプログラムされていることは理解されよう。このような分類および分析は、赤血球の分類のため米国特許第 4,453,286号に要旨が示されたものと同様しており、本発明は特に赤血球の分析において有効であり、上記の如くDNA成分よりはヘモグロビン成分の光学的強度が測定される。赤血球の分析において一般的であるように、赤血球は画像の強調のため染色される必要がなく、そのため前掲のBacusの米国特許に記載される特定の光の波長を用いる際の赤血球に対する染色校正ステップは省くことができる。

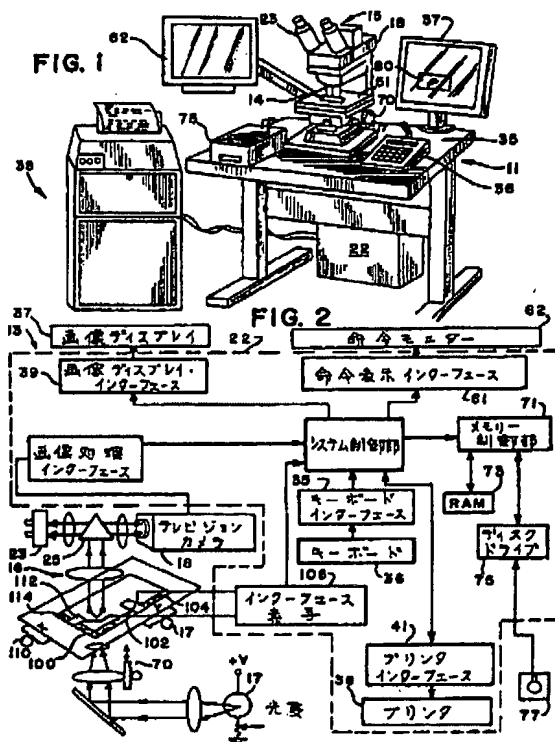
本発明の更に別の用途は、クールタ (Coulter) カウンタの如き他の計測の校正のため、実際にピコグラム単位のヘモグロビン成分の正確な測定を行なうことにある。このようなプロセスにおいては、基準となる血球40は公知の予め定めたヘモグロビン値を有し、未知のヘモグロビン値の試料用血球12が試料領域51上に定置される。次いで、本装置を校正して試料血球12のヘモグロビン成分についてのヒストグラムを顯示する。

また、種々の校正ステップを排除するかあるいは組合せることができ、またDNA分析を行なうため本発明の望ましい実施態様について記述した量および

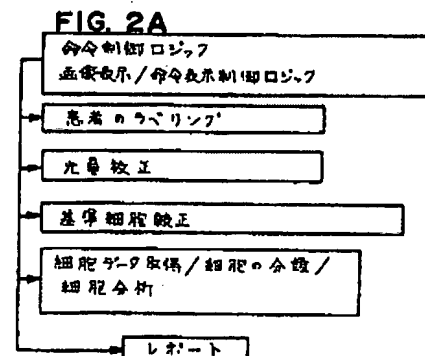
シーケンスおよび方法においてなされるものより同時に行なうことができることが理解されよう。抗原の分析のための本発明の用途は、試料および基準の細胞核抗体に対して単一分岐系の抗体を結合するステップを含むこともできる。単一分岐系の抗体を後で酵素を用いて標合させることもできる。また、単一分岐系の抗体を蛍光物質を用いて標合させることもできる。その後、蛍光染料は蛍光を生じる被検で付着することができ、試料の核抗体は蛍光が発生する別の被検において観察することができる。抗原が特定のビールスに対して作られる時、基準となる試料の細胞核抗体はこのビールスのゲノム用の核膜プローブにより処理することもできる。

本発明の望ましい実施態様について本文に例示したが、当業者には、文尾の請求の範囲に記載される本発明の主旨および範囲から逸脱することなく、種々の変更および修正が可能であることが明らかであろう。

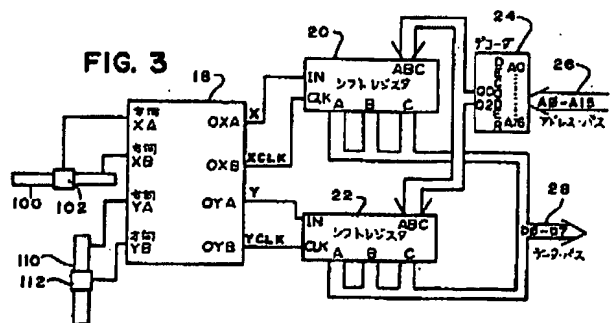
淨器（内容に変更なし）



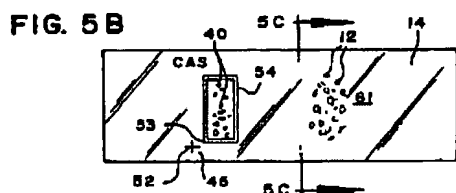
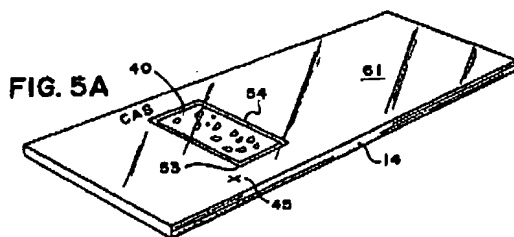
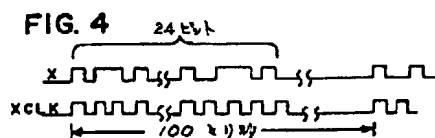
浄書（内容に変更なし）



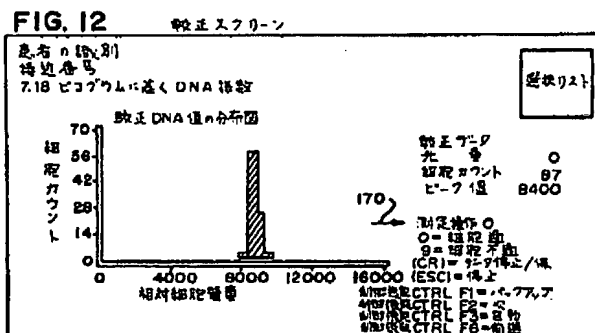
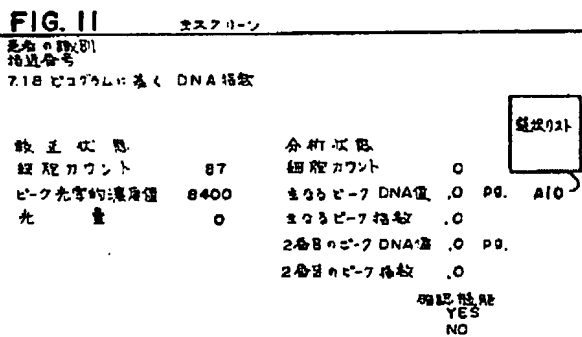
**FIG. 3**



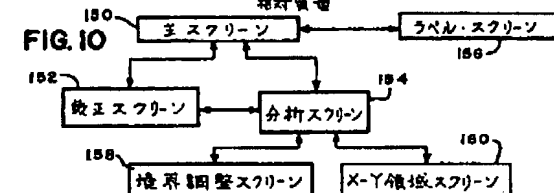
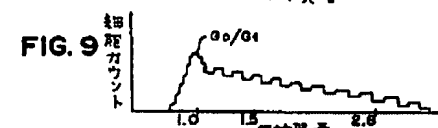
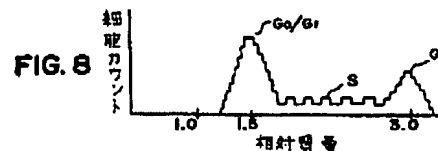
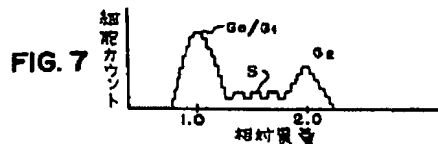
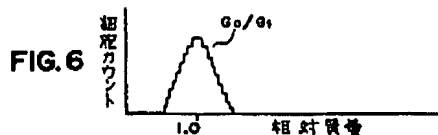
浄番 (内容に変更なし)



浄番 (内容に変更なし)



浄番 (内容に変更なし)



浄番 (内容に変更なし)

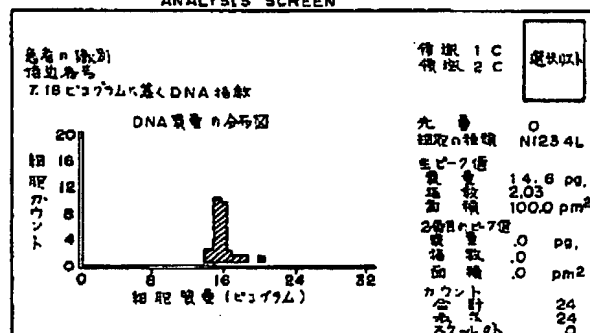
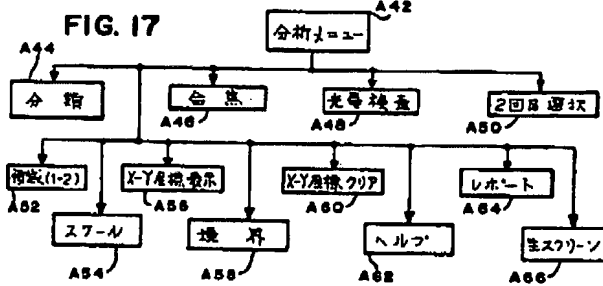
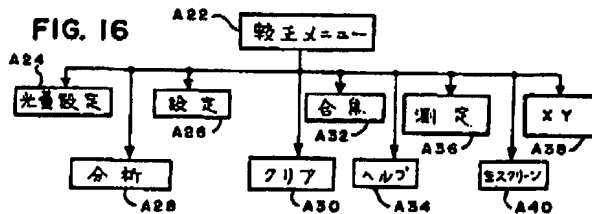
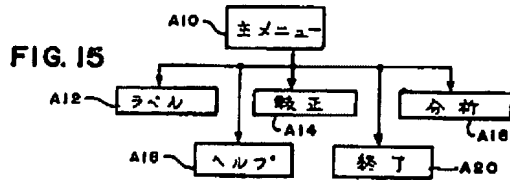
FIG. 13 分析スクリーン  
ANALYSIS SCREEN

FIG. 14 X-Y領域 スクリーン

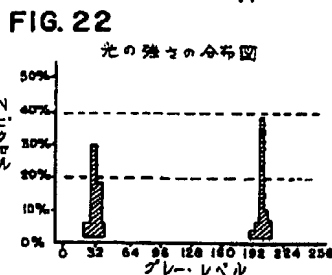
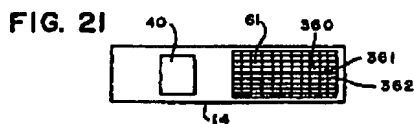
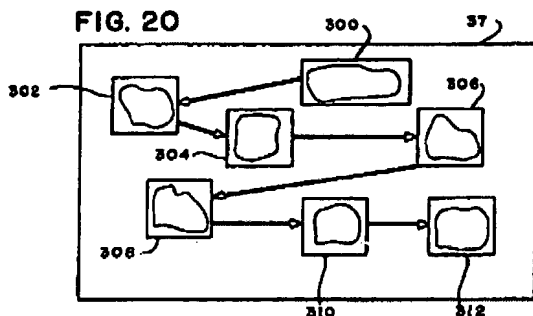
領域#	X	Y	領域#	X	Y	領域#	X	Y
1	1248	0218						
2	1236	0210						
3	1235	0039						
4	1183	0078						

選択リスト

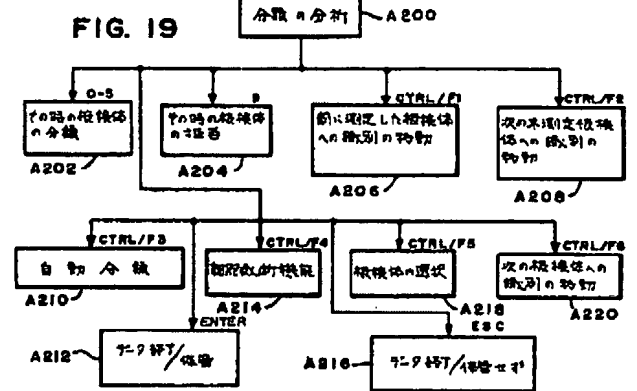
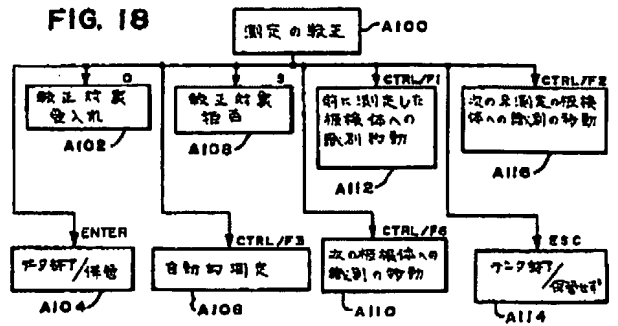
浄書 (内容に変更なし)



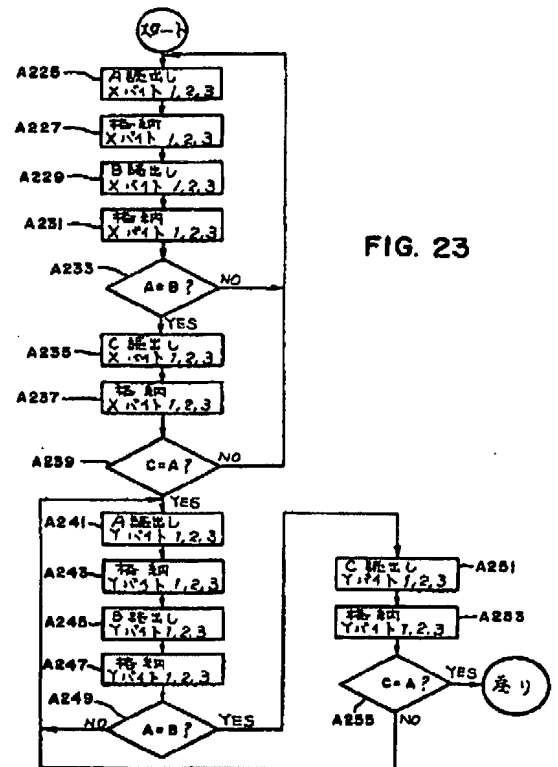
浄書 (内容に変更なし)



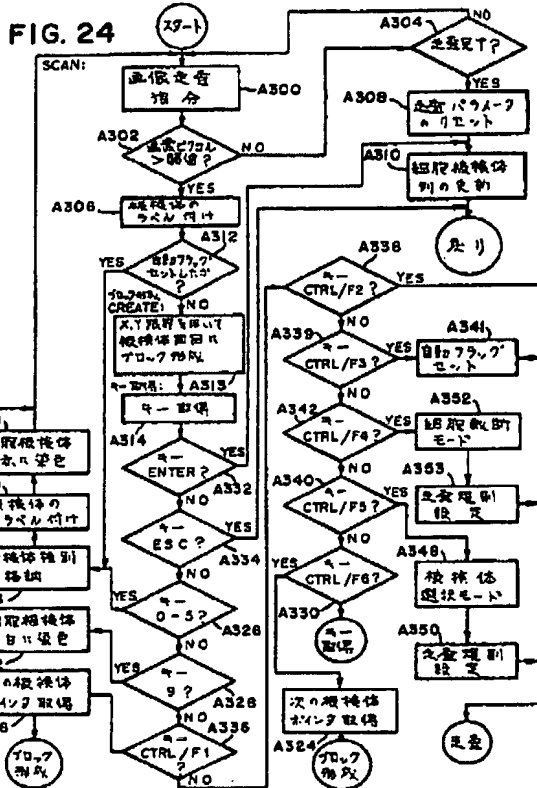
浄書 (内容に変更なし)



浄書 (内容に変更なし)



検査 (内容に変更なし)



検査 (内容に変更なし)

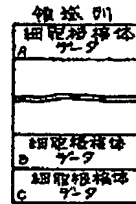


FIG. 24A

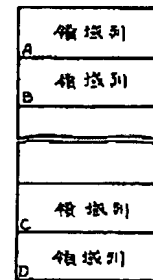


FIG. 24B

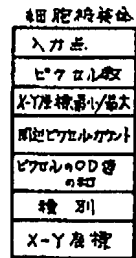


FIG. 24C

手続補正書 (方式)

昭和63年4月4日

特許庁長官 小川 邦夫 殿

1. 事件の表示  
PCT/US86/02409

2. 発明の名称

生体標本用の分析方法および装置

3. 補正をする者  
事件との関係 出願人  
住所  
名称 セル・アナリシス・システムズ・  
インコーポレーテッド

4. 代理人  
住所 東京都千代田区大手町二丁目2番1号  
新大手町ビル 206号室 函  
電話 270-6641-6646  
氏名 (2770) 井理士 橋 渡 翁

5. 補正命令の日付 昭和63年 3月22日 (発送日)

6. 補正の対象  
出願人の代表者名を記載した国内書面  
委任状及び翻訳文  
図面の翻訳文

7. 補正の内容  
別紙の通り (尚、図面の翻訳文の内容には変更なし)

国際調査報告

International Publication No. PCT/US86/02409

1. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC (4): G05K 9/00; G01N 21/00; G06F 15/42; G02B 21/26  
U.S. C. 382/6; 382/311; 382/312; 382/313; 382/314; 382/315; 382/316; 382/317; 382/318; 382/319; 382/320; 382/321; 382/322; 382/323; 382/324; 382/325; 382/326; 382/327; 382/328; 382/329; 382/330; 382/331; 382/332; 382/333; 382/334; 382/335; 382/336; 382/337; 382/338; 382/339; 382/340; 382/341; 382/342; 382/343; 382/344; 382/345; 382/346; 382/347; 382/348; 382/349; 382/350; 382/351; 382/352; 382/353; 382/354; 382/355; 382/356; 382/357; 382/358; 382/359; 382/360; 382/361; 382/362; 382/363; 382/364; 382/365; 382/366; 382/367; 382/368; 382/369; 382/370; 382/371; 382/372; 382/373; 382/374; 382/375; 382/376; 382/377; 382/378; 382/379; 382/380; 382/381; 382/382; 382/383; 382/384; 382/385; 382/386; 382/387; 382/388; 382/389; 382/390; 382/391; 382/392; 382/393; 382/394; 382/395; 382/396; 382/397; 382/398; 382/399; 382/400; 382/401; 382/402; 382/403; 382/404; 382/405; 382/406; 382/407; 382/408; 382/409; 382/410; 382/411; 382/412; 382/413; 382/414; 382/415; 382/416; 382/417; 382/418; 382/419; 382/420; 382/421; 382/422; 382/423; 382/424; 382/425; 382/426; 382/427; 382/428; 382/429; 382/430; 382/431; 382/432; 382/433; 382/434; 382/435; 382/436; 382/437; 382/438; 382/439; 382/440; 382/441; 382/442; 382/443; 382/444; 382/445; 382/446; 382/447; 382/448; 382/449; 382/450; 382/451; 382/452; 382/453; 382/454; 382/455; 382/456; 382/457; 382/458; 382/459; 382/460; 382/461; 382/462; 382/463; 382/464; 382/465; 382/466; 382/467; 382/468; 382/469; 382/470; 382/471; 382/472; 382/473; 382/474; 382/475; 382/476; 382/477; 382/478; 382/479; 382/480; 382/481; 382/482; 382/483; 382/484; 382/485; 382/486; 382/487; 382/488; 382/489; 382/490; 382/491; 382/492; 382/493; 382/494; 382/495; 382/496; 382/497; 382/498; 382/499; 382/500; 382/501; 382/502; 382/503; 382/504; 382/505; 382/506; 382/507; 382/508; 382/509; 382/510; 382/511; 382/512; 382/513; 382/514; 382/515; 382/516; 382/517; 382/518; 382/519; 382/520; 382/521; 382/522; 382/523; 382/524; 382/525; 382/526; 382/527; 382/528; 382/529; 382/530; 382/531; 382/532; 382/533; 382/534; 382/535; 382/536; 382/537; 382/538; 382/539; 382/540; 382/541; 382/542; 382/543; 382/544; 382/545; 382/546; 382/547; 382/548; 382/549; 382/550; 382/551; 382/552; 382/553; 382/554; 382/555; 382/556; 382/557; 382/558; 382/559; 382/560; 382/561; 382/562; 382/563; 382/564; 382/565; 382/566; 382/567; 382/568; 382/569; 382/570; 382/571; 382/572; 382/573; 382/574; 382/575; 382/576; 382/577; 382/578; 382/579; 382/580; 382/581; 382/582; 382/583; 382/584; 382/585; 382/586; 382/587; 382/588; 382/589; 382/590; 382/591; 382/592; 382/593; 382/594; 382/595; 382/596; 382/597; 382/598; 382/599; 382/600; 382/601; 382/602; 382/603; 382/604; 382/605; 382/606; 382/607; 382/608; 382/609; 382/610; 382/611; 382/612; 382/613; 382/614; 382/615; 382/616; 382/617; 382/618; 382/619; 382/620; 382/621; 382/622; 382/623; 382/624; 382/625; 382/626; 382/627; 382/628; 382/629; 382/630; 382/631; 382/632; 382/633; 382/634; 382/635; 382/636; 382/637; 382/638; 382/639; 382/640; 382/641; 382/642; 382/643; 382/644; 382/645; 382/646; 382/647; 382/648; 382/649; 382/650; 382/651; 382/652; 382/653; 382/654; 382/655; 382/656; 382/657; 382/658; 382/659; 382/660; 382/661; 382/662; 382/663; 382/664; 382/665; 382/666; 382/667; 382/668; 382/669; 382/670; 382/671; 382/672; 382/673; 382/674; 382/675; 382/676; 382/677; 382/678; 382/679; 382/680; 382/681; 382/682; 382/683; 382/684; 382/685; 382/686; 382/687; 382/688; 382/689; 382/690; 382/691; 382/692; 382/693; 382/694; 382/695; 382/696; 382/697; 382/698; 382/699; 382/700; 382/701; 382/702; 382/703; 382/704; 382/705; 382/706; 382/707; 382/708; 382/709; 382/710; 382/711; 382/712; 382/713; 382/714; 382/715; 382/716; 382/717; 382/718; 382/719; 382/720; 382/721; 382/722; 382/723; 382/724; 382/725; 382/726; 382/727; 382/728; 382/729; 382/730; 382/731; 382/732; 382/733; 382/734; 382/735; 382/736; 382/737; 382/738; 382/739; 382/740; 382/741; 382/742; 382/743; 382/744; 382/745; 382/746; 382/747; 382/748; 382/749; 382/750; 382/751; 382/752; 382/753; 382/754; 382/755; 382/756; 382/757; 382/758; 382/759; 382/760; 382/761; 382/762; 382/763; 382/764; 382/765; 382/766; 382/767; 382/768; 382/769; 382/770; 382/771; 382/772; 382/773; 382/774; 382/775; 382/776; 382/777; 382/778; 382/779; 382/780; 382/781; 382/782; 382/783; 382/784; 382/785; 382/786; 382/787; 382/788; 382/789; 382/790; 382/791; 382/792; 382/793; 382/794; 382/795; 382/796; 382/797; 382/798; 382/799; 382/800; 382/801; 382/802; 382/803; 382/804; 382/805; 382/806; 382/807; 382/808; 382/809; 382/810; 382/811; 382/812; 382/813; 382/814; 382/815; 382/816; 382/817; 382/818; 382/819; 382/820; 382/821; 382/822; 382/823; 382/824; 382/825; 382/826; 382/827; 382/828; 382/829; 382/830; 382/831; 382/832; 382/833; 382/834; 382/835; 382/836; 382/837; 382/838; 382/839; 382/840; 382/841; 382/842; 382/843; 382/844; 382/845; 382/846; 382/847; 382/848; 382/849; 382/850; 382/851; 382/852; 382/853; 382/854; 382/855; 382/856; 382/857; 382/858; 382/859; 382/860; 382/861; 382/862; 382/863; 382/864; 382/865; 382/866; 382/867; 382/868; 382/869; 382/870; 382/871; 382/872; 382/873; 382/874; 382/875; 382/876; 382/877; 382/878; 382/879; 382/880; 382/881; 382/882; 382/883; 382/884; 382/885; 382/886; 382/887; 382/888; 382/889; 382/890; 382/891; 382/892; 382/893; 382/894; 382/895; 382/896; 382/897; 382/898; 382/899; 382/900; 382/901; 382/902; 382/903; 382/904; 382/905; 382/906; 382/907; 382/908; 382/909; 382/910; 382/911; 382/912; 382/913; 382/914; 382/915; 382/916; 382/917; 382/918; 382/919; 382/920; 382/921; 382/922; 382/923; 382/924; 382/925; 382/926; 382/927; 382/928; 382/929; 382/930; 382/931; 382/932; 382/933; 382/934; 382/935; 382/936; 382/937; 382/938; 382/939; 382/940; 382/941; 382/942; 382/943; 382/944; 382/945; 382/946; 382/947; 382/948; 382/949; 382/950; 382/951; 382/952; 382/953; 382/954; 382/955; 382/956; 382/957; 382/958; 382/959; 382/960; 382/961; 382/962; 382/963; 382/964; 382/965; 382/966; 382/967; 382/968; 382/969; 382/970; 382/971; 382/972; 382/973; 382/974; 382/975; 382/976; 382/977; 382/978; 382/979; 382/980; 382/981; 382/982; 382/983; 382/984; 382/985; 382/986; 382/987; 382/988; 382/989; 382/990; 382/991; 382/992; 382/993; 382/994; 382/995; 382/996; 382/997; 382/998; 382/999; 382/1000; 382/1001; 382/1002; 382/1003; 382/1004; 382/1005; 382/1006; 382/1007; 382/1008; 382/1009; 382/1010; 382/1011; 382/1012; 382/1013; 382/1014; 382/1015; 382/1016; 382/1017; 382/1018; 382/1019; 382/1020; 382/1021; 382/1022; 382/1023; 382/1024; 382/1025; 382/1026; 382/1027; 382/1028; 382/1029; 382/1030; 382/1031; 382/1032; 382/1033; 382/1034; 382/1035; 382/1036; 382/1037; 382/1038; 382/1039; 382/1040; 382/1041; 382/1042; 382/1043; 382/1044; 382/1045; 382/1046; 382/1047; 382/1048; 382/1049; 382/1050; 382/1051; 382/1052; 382/1053; 382/1054; 382/1055; 382/1056; 382/1057; 382/1058; 382/1059; 382/1060; 382/1061; 382/1062; 382/1063; 382/1064; 382/1065; 382/1066; 382/1067; 382/1068; 382/1069; 382/1070; 382/1071; 382/1072; 382/1073; 382/1074; 382/1075; 382/1076; 382/1077; 382/1078; 382/1079; 382/1080; 382/1081; 382/1082; 382/1083; 382/1084; 382/1085; 382/1086; 382/1087; 382/1088; 382/1089; 382/1090; 382/1091; 382/1092; 382/1093; 382/1094; 382/1095; 382/1096; 382/1097; 382/1098; 382/1099; 382/1100; 382/1101; 382/1102; 382/1103; 382/1104; 382/1105; 382/1106; 382/1107; 382/1108; 382/1109; 382/1110; 382/1111; 382/1112; 382/1113; 382/1114; 382/1115; 382/1116; 382/1117; 382/1118; 382/1119; 382/1120; 382/1121; 382/1122; 382/1123; 382/1124; 382/1125; 382/1126; 382/1127; 382/1128; 382/1129; 382/1130; 382/1131; 382/1132; 382/1133; 382/1134; 382/1135; 382/1136; 382/1137; 382/1138; 382/1139; 382/1140; 382/1141; 382/1142; 382/1143; 382/1144; 382/1145; 382/1146; 382/1147; 382/1148; 382/1149; 382/1150; 382/1151; 382/1152; 382/1153; 382/1154; 382/1155; 382/1156; 382/1157; 382/1158; 382/1159; 382/1160; 382/1161; 382/1162; 382/1163; 382/1164; 382/1165; 382/1166; 382/1167; 382/1168; 382/1169; 382/1170; 382/1171; 382/1172; 382/1173; 382/1174; 382/1175; 382/1176; 382/1177; 382/1178; 382/1179; 382/1180; 382/1181; 382/1182; 382/1183; 382/1184; 382/1185; 382/1186; 382/1187; 382/1188; 382/1189; 382/1190; 382/1191; 382/1192; 382/1193; 382/1194; 382/1195; 382/1196; 382/1197; 382/1198; 382/1199; 382/1200; 382/1201; 382/1202; 382/1203; 382/1204; 382/1205; 382/1206; 382/1207; 382/1208; 382/1209; 382/1210; 382/1211; 382/1212; 382/1213; 382/1214; 382/1215; 382/1216; 382/1217; 382/1218; 382/1219; 382/1220; 382/1221; 382/1222; 382/1223; 382/1224; 382/1225; 382/1226; 382/1227; 382/1228; 382/1229; 382/1230; 382/1231; 382/1232; 382/1233; 382/1234; 382/1235; 382/1236; 382/1237; 382/1238; 382/1239; 382/1240; 382/1241; 382/1242; 382/1243; 382/1244; 382/1245; 382/1246; 382/1247; 382/1248; 382/1249; 382/1250; 382/1251; 382/1252; 382/1253; 382/1254; 382/1255; 382/1256; 382/1257; 382/1258; 382/1259; 382/1260; 382/1261; 382/1262; 382/1263; 382/1264; 382/1265; 382/1266; 382/1267; 382/1268; 382/1269; 382/1270; 382/1271; 382/1272; 382/1273; 382/1274; 382/1275; 382/1276; 382/1277; 382/1278; 382/1279; 382/1280; 382/1281; 382/1282; 382/1283; 382/1284; 382/1285; 382/1286; 382/1287; 382/1288; 382/1289; 382/1290; 382/1291; 382/1292; 382/1293; 382/1294; 382/1295; 382/1296; 382/1297; 382/1298; 382/1299; 382/1300; 382/1301; 382/1302; 382/1303; 382/1304; 382/1305; 382/1306; 382/1307; 382/1308; 382/1309; 382/1310; 382/1311; 382/1312; 382/1313; 382/1314; 382/1315; 382/1316; 382/1317; 382/1318; 382/1319; 382/1320; 382/1321; 382/1322; 382/1323; 382/1324; 382/1325; 382/1326; 382/1327; 382/1328; 382/1329; 382/1330; 382/1331; 382/1332; 382/1333; 382/1334; 382/1335; 382/1336; 382/1337; 382/1338; 382/1339; 382/1340; 382/1341; 382/1342; 382/1343; 382/1344; 382/1345; 382/1346; 382/1347; 382/1348; 382/1349; 382/1350; 382/1351; 382/1352; 382/1353; 382/1354; 382/1355; 382/1356; 382/1357; 382/1358; 382/1359; 382/1360; 382/1361; 382/1362; 382/1363; 382/1364; 382/1365; 382/1366; 382/1367; 382/1368; 382/1369; 382/1370; 382/1371; 382/1372; 382/1373; 382/1374; 382/1375; 382/1376; 382/1377; 382/1378; 382/1379; 382/1380; 382/1381; 382/1382; 382/1383; 382/1384; 382/1385; 382/1386; 382/1387; 382/1388; 382/1389; 382/1390; 382/1391; 382/1392; 382/1393; 382/1394; 382/1395; 382/1396; 382/1397; 382/1398; 382/1399; 382/1400; 382/1401; 382/1402; 382/1403; 382/1404; 382/1405; 382/1406; 382/1407; 382/1408; 382/1409; 382/1410; 382/1411; 382/1412; 382/1413; 382/1414; 382/1415; 382/1416; 382/1417; 382/1418; 382/1419; 382/1420; 382/1421; 382/1422; 382/1423; 382/1424; 382/1425; 382/1426; 382/1427; 382/1428; 382/1429; 38

International Application No. PCT/US88/01409

B. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE PREVIOUS SHEET)		
Category	Character of Relevance, i.e. why document, where appropriate, is relevant to the invention claimed in the application	Referred to in Claim No. 1
Y	US, A, 3,297,879 (MEYER) 10 January 1967, see column 2, line 65 to column 3, line 58.	60
Y	US, A, 4,513,438 (GRAHAM ET AL) 23 April 1985, see column 5, lines 32 to 45.	62, 78-94
Y	US, A, 4,175,860 (BACUS) 27 November 1979, see column 4, line 31 to column 5, line 13.	63-71, 75

Form PCT 584 210 (when filled) October 1981